



**Maria Isabel da Silva
Ferreira de Marques**

**Biossensores de odor para deteção de patologias
ginecológicas**



**Maria Isabel da Silva
Ferreira de Marques**

**Biossensores de odor para deteção de patologias
ginecológicas**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Engenharia Física, realizada sob a orientação científica do Prof. Dr. Luiz Fernando Ribeiro Pereira, Professor Auxiliar do Departamento de Física da Universidade de Aveiro.

Dedico este trabalho ao meu marido. Sempre aprendemos juntos a superar todas as dificuldades.

o júri

presidente

Prof. Dr. João Filipe Calapez de Albuquerque Veloso
Professor Auxiliar Convidado, Departamento de Física da Universidade de Aveiro

arguente

Prof. Dr. Senentxu Lanceros-Mendes
Professor Associado, Departamento de Física da Universidade do Minho

orientador

Prof. Dr. Luiz Fernando Ribeiro Pereira
Professor Auxiliar, Departamento de Física da Universidade de Aveiro

agradecimentos

Os meus mais sinceros agradecimentos ao meu orientador, Prof. Doutor Luiz Pereira, por todo o seu apoio, disponibilidade, colaboração, motivação e conhecimento transmitido, indispensáveis à concretização deste trabalho. Agradeço ainda pela oportunidade que me deu de fazer parte de um trabalho tão inovador, na área da Física Médica, área que sempre me fascinou e despertou interesse.

Agradeço à Faculdade de Ciências da Saúde da UBI (Universidade da Beira Interior), Covilhã, em particular à Dr.^a Ana Cristina Palmeira de Oliveira e ao Professor Doutor José Martinez de Oliveira, pela amabilidade com que me receberam e pela dedicação e disponibilidade que demonstraram no decorrer da investigação.

Ao Dr. João Gomes e à Dra. Joana Marques do CeNTI (Centro de Materiais Técnicos, Funcionais e Inteligentes), pela ajuda no fabrico dos microelétrodos interdigitados.

Ao meu colega João Costa pela excelente companhia e pelo apoio nas diferentes fases deste percurso.

Ao Sr. Ivo e Sr. Miguel pelo trabalho na construção do equipamento, pelo conhecimento partilhado e pelo carinho com que sempre me receberam.

Ao meu marido, pelo amor, carinho, dedicação e paciência que sempre teve, e pela constante motivação ao longo do meu percurso universitário.

Aos meus pais que, apesar das dificuldades, sempre me motivaram e permitiram que chegasse até aqui.

Aos meus avós pelo amor incondicional.

palavras-chave

biossensores, nariz eletrônico, candidose vaginal, semicondutores orgânicos.

resumo

No presente trabalho estudaram-se diferentes sensores, baseados em “narizes eletrônicos”, com vista à aplicação tecnológica futura destes dispositivos como ferramenta de detecção de patologias ginecológicas. Foram desenvolvidos e estudados dois tipos de sensores, uns com microelétrodos interdigitados de prata e outros com microelétrodos interdigitados de carbono, ambos com uma camada do polímero PEDOT:PSS. Foi testado um analito biológico à base de culturas de *Candida*, que pretende simular a patologia Candidose Vaginal. As medidas envolvem modos resistivo e capacitivo bem como diferentes estruturas dimensionais dos sensores. Foram realizados outros testes com diferentes odores (acetona, isopropanol, café e perfumes) com vista a uma maior compreensão do comportamento deste tipo de sensores. Em todos os casos obteve-se uma resposta rápida, estável e reversível dos sensores, quer em modo resistivo quer em modo capacitivo, e verificou-se que os valores das variações de ambientes de ar para analito (e vice-versa) são sempre de uma ordem de grandeza que, numa análise estatística, permite dar garantias relativamente boas de uma detecção bem sucedida.

keywords

biosensores, electronic nose, vaginal candidosis, organic semiconductors.

abstract

In the present work we studied different sensors, based on "electronic noses", thinking in future technological applications of these devices as a tool for detection of gynecological pathologies. Two kinds of sensors were developed and studied, with interdigitated microelectrodes based on silver and based on carbon, each one with a layer of polymer PEDOT:PSS. A biological analyte based on *Candida* biological culture, which aims to simulate the pathology Vaginal Candidosis was tested. The measures involve resistive and capacitive methods and structures for different dimensional sensors. Other tests with different odors (acetone, isopropanol, coffee and perfumes), with a view to further understanding of the behavior of this type of sensors, were performed. In all cases we obtained a fast, stable and reversible sensor response in either resistive or capacitive mode, and has been found that the values of the variations of ambient air to analyte (and vice versa) has always a magnitude that, in a statistical analysis allows giving relatively good guarantees of a successful detection.

Índice

1.	Introdução	1
2.	Conceitos Fundamentais	3
2.1.	Biossensores ou sensores químicos	3
2.2.	Narizes Eletrônicos	4
2.3.	Polímeros condutores	5
3.	Materiais e Métodos	7
3.1.	Materiais	7
3.1.1.	PEDOT:PSS	7
3.1.1.1.	Preparação	10
3.1.2.	Substrato	10
3.1.3.	Microelétrodo Interdigitado	10
3.1.3.1.	Caracterização capacitiva e resistiva	11
3.1.4.	Analitos.....	13
3.1.5.	Equipamento	15
3.2.	Métodos	17
3.2.1.	<i>Screen Printing</i>	17
3.2.2.	<i>Spin Coating</i>	19
4.	Resultados e Discussão	22
4.1.	Introdução	22
4.2.	Desenvolvimento e avaliação do desempenho em sensores com microelétrodo de carbono e de prata	23
4.3.	Desenvolvimento e avaliação do desempenho em sensores com microelétrodo de carbono de diferentes tamanhos.....	30
4.4.	Desenvolvimento e avaliação do desempenho em sensores com microelétrodo de carbono em diferentes analitos	36
5.	Conclusões	41
	Referências Bibliográficas	43

Lista de Figuras

Figura 1 – Representação esquemática do funcionamento de um sensor químico.....	3
Figura 2 – Comparação entre o sistema sensorial biológico e o sistema sensorial artificial a partir da receção de um estímulo, seguido da reação a este (adaptação de [6] e [41]).	4
Figura 3 – Ilustração dos sensores produzidos e respetiva aplicação.....	7
Figura 4 – Estrutura molecular do PEDOT [56].	7
Figura 5 – Estrutura molecular do PSSH e do PSS ⁻ Na ⁺ [56].	8
Figura 6 – Estrutura molecular do PEDOT: PSS [56].	8
Figura 7 – Estrutura laminar da mistura PEDOT: PSS [56].	9
Figura 8 – Microelétrodos interdigitados utilizados no fabrico dos biossensores e respectivas dimensões.	11
Figura 9 – Representação das pistas numa placa de circuito impresso e respetiva analogia para o sensor estudado (adaptado de [62]).	11
Figura 10 – Representação da resistividade.	12
Figura 11 – Circuito equivalente para o sensor estudado.....	13
Figura 12 – Cultura de fungos do tipo Candida observados em Candidose Vaginal.....	14
Figura 13 – Representação esquemática e montagem real do equipamento utilizado.	15
Figura 14 – Montagem Experimental: a) Equipamento completo e respetivos equipamentos de medida; b) Sensor dentro da Caixa I; c) Analito ACV dentro da Caixa II.	16
Figura 15 – Esquema genérico da montagem experimental.	16
Figura 16 – Ilustração da técnica de Screen Printing (adaptado de [66]).	17
Figura 17 – Equipamento Screen Printing RP 2.2 no CeNTI.	18
Figura 18 – Tela (MESH) com o <i>patterning</i> da malha (a amarelo) e a pasta de prata.	18
Figura 19 – Diferentes estágios da técnica de <i>spin coating</i> . a) Deposição do fluido; b) Dispersão do fluido; c) Uniformização do filme; d) Evaporação do solvente (adaptado de [68]).	20
Figura 20 – <i>Spin Coater</i> utilizado neste trabalho.	21

Figura 21 – Variações em modo resistivo e capacitivo nas transições de ambiente.	22
Figura 22 – Gráfico da resistência em função do tempo para amostras com microelétrodo de carbono.	24
Figura 23 – Gráfico da capacidade em função do tempo para amostras com microelétrodo de carbono.	24
Figura 24 – Gráfico da derivada dos sinais registrados em função do tempo para amostras com microelétrodo de carbono. (a) Modo resistivo e sensor C800; (b) Modo capacitivo e sensor C200.	26
Figura 25 – Gráfico da resistência em função do tempo para amostras com microelétrodo de prata.	27
Figura 26 – Gráfico da capacidade em função do tempo para amostras com microelétrodo de prata.	27
Figura 27 – Gráficos da derivada dos sinais registrados em função do tempo para amostras com microelétrodo de prata. (a) Modo resistivo e sensor P800; (b) Modo capacitivo e sensor P200.	29
Figura 28 – Gráfico da resistência em função do tempo para a amostra C800 e resposta em função do tempo de vida (12 dias).....	31
Figura 29 – Gráfico da capacidade em função do tempo para a amostra C800 e resposta em função do tempo de vida (12 dias).....	31
Figura 30 – Gráfico da resistência em função do tempo para a amostra C500 e resposta em função do tempo de vida (12 dias).....	32
Figura 31 – Gráfico da capacidade em função do tempo para a amostra C800 e resposta em função do tempo de vida (12 dias).....	32
Figura 32 – Gráfico da resistência em função do tempo para a amostra C300 e resposta em função do tempo de vida (11 dias).....	33
Figura 33 – Gráfico da capacidade em função do tempo para a amostra C300 e resposta em função do tempo de vida (11 dias).....	34
Figura 34 – Gráfico da resistência em função do tempo para a amostra C200 e resposta em função do tempo de vida (14 dias).....	35
Figura 35 – Gráfico da capacidade em função do tempo para a amostra C200 e resposta em função do tempo de vida (14 dias).....	35
Figura 36 – Gráfico da resistência em função do tempo para a amostra C300 para diferentes analitos (acetona, isopropanol e café).	37

Figura 37 – Gráfico da capacidade em função do tempo para a amostra C300 para diferentes analitos (acetona, isopropanol e café). 37

Figura 38 – Gráfico da resistência em função do tempo para a amostra C300 para diferentes perfumes (Hugo Boss Intense e Montana). 38

Figura 39 – Gráfico da capacidade em função do tempo para a amostra C300 para diferentes perfumes (Hugo Boss Intense e Montana). 38

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Vantagens e desvantagens da utilização da técnica de <i>spin coating</i>	19
Tabela 2 – Sumário das variações (Δ) para sensores com pistas de carbono em função do espaçamento entre as pistas na alternância Ar-Analito. Modo resistivo.	25
Tabela 3 – Sumário das variações (Δ) para sensores com pistas de carbono em função do espaçamento entre as pistas. Modo capacitivo.....	25
Tabela 4 – Sumário das variações (Δ) para sensores com pistas de prata em função do espaçamento entre as pistas na alternância Ar-Analito. Modo resistivo.	28
Tabela 5 – Sumário das variações (Δ) para sensores com pistas de prata em função do espaçamento entre as pistas na alternância Ar-Analito. Modo capacitivo.	28
Tabela 6 – Sumário das variações médias de Δ para sensores C300 em função de diferentes analitos. Modos resistivo e capacitivo.	39

1. Introdução

A consulta regular a um ginecologista constitui, na ausência de problemas específicos, uma ocasião ideal para avaliar o estado do aparelho genital feminino e constatar a sua normalidade ou descobrir a existência de patologias que, embora ainda não se tenham manifestado, necessitam de tratamento imediato. Apesar de a sua finalidade ser essencialmente preventiva, por vezes, possibilita o diagnóstico fácil e prematuro de determinadas doenças que, caso não se proceda ao seu oportuno tratamento, podem ter uma evolução grave, como o cancro do colo do útero. Porém, caso sejam detetadas nas suas fases iniciais, podem ser tratadas com êxito.

Mediante esta situação, torna-se necessário o desenvolvimento de tecnologias dedicadas à deteção precoce de doenças. No entanto, as técnicas existentes para esse efeito exigem que a análise seja feita em laboratório, por entidades especializadas. Além de dispendiosas, levam um tempo excessivo para serem realizadas (de uma a duas semanas).

Uma tecnologia mais simples e económica, que pudesse ser realizada em qualquer lado e por qualquer pessoa (desde o paciente em casa ou o médico no seu consultório), seria amplamente desejável para um controle mais rigoroso das doenças do foro ginecológico.

Dentre as doenças ginecológicas mais frequentes, especialistas caracterizam-nas com odores característicos: a Candidíase com um odor cítrico, a Tricomoníase com um odor desagradável e a Vaginose Bacteriana com um odor fétido.

Ao longo do tempo têm sido desenvolvidos sensores capazes de discriminar líquidos e gases pela diferença de sabor e odor [1-9]. Estes sensores atuam de maneira similar aos sistemas gustativo e olfativo humano, sendo vulgarmente denominados por língua eletrónica e nariz eletrónico [10,11]. Em cada um deles, cada unidade sensorial responde de forma individual à presença da substância de interesse, gerando uma impressão digital característica, a qual pode ser interpretada com o auxílio de ferramentas computacionais.

O uso de polímeros condutores em camadas sensíveis de sensores químicos, usados em narizes e línguas eletrónicas, tem sido bastante considerado nos últimos anos devido, principalmente, à capacidade destes materiais sofrerem alteração, de forma reversível, quanto aos seus valores intrínsecos, nomeadamente grandezas elétricas em função da exposição a diferentes substâncias químicas/biológicas e a diferentes ambientes [12-15].

Diversos centros de pesquisa têm desenvolvido línguas eletrónicas com polímeros condutores extremamente eficientes na certificação de bebidas tais como café, vinho, água, por meio da análise de sabores e aromas. Além da certificação, este sistema é capaz de detetar quantidades ínfimas de contaminantes em água, tais como metais pesados e pesticidas [2, 5, 16, 17]. Esta língua eletrónica é constituída por um conjunto de filmes nano-estruturados de polímeros condutores depositados sobre microelétrodos interdigitados cuja impedância elétrica é medida quando imersos na amostra a avaliar [17-19].

Narizes eletrónicos em filmes nano-estruturados de polímeros condutores e microelétrodos interdigitados também foram já estudados no passado [20, 21] e, da mesma forma das línguas eletrónicas, a impedância das unidades sensoriais é medida quando estas são expostas à substância de interesse, que neste caso serão gases ou aromas em análise.

Recentemente, sensores baseados em condensadores ganham vantagem a partir da introdução no mercado de dispositivos híbridos destinados a biometria para detetar impressões digitais. Estes dispositivos são matrizes de centenas de condensadores e a sua utilização como sensores foi introduzida, há poucos anos, para deteção química [22, 23] e para a identificação de ADN [24].

Narizes eletrônicos contendo sensores fabricados através de microelétrodos interdigitados cobertos com uma camada sensuativa orgânica estão entre os dispositivos não seletivos mais encontrados na literatura [25-28].

A utilização simultânea de diferentes tecnologias de sensores tem sido demonstrada no passado [29,30] e é um método eficiente para aumentar o desempenho dos sistemas de sensores químicos. Entre as tecnologias disponíveis, transdutores de massa e capacitância são particularmente interessantes porque podem ser vantajosos também a partir de camadas sensuativas não condutoras, tais como a maioria dos sistemas de reconhecimento molecular [31].

Deste modo, o objetivo deste trabalho passou pelo desenvolvimento de sensores capazes de reagir ou mesmo caracterizar diferenciadamente doenças do foro ginecológico, uma vez que grande parte destas doenças têm um odor muito característico.

Para tal, foram fabricados sensores através de microelétrodos interdigitados (de prata e de carbono) com uma camada sensuativa de um polímero condutor (PEDOT:PSS).

Foram feitas medidas de resistência e de capacidade em função da exposição dos sensores às amostras de odores que simulam uma determinada doença ginecológica (analito biológico).

Paralelamente pretendeu-se avaliar a exequibilidade de um sistema minimamente fiável, simples e barato, a pensar na sua miniaturização e eventual comercialização, contribuindo assim para a despistagem em casa (*self-test*) de patologias ginecológicas comuns.

2. Conceitos Fundamentais

2.1. Biossensores ou sensores químicos

Um sensor químico é, em geral, um dispositivo que transforma uma informação química num sinal analiticamente mensurável [32]. Essa informação pode ter origem numa propriedade física do sistema a investigar ou numa reação química que ocorre entre o analito e a camada sensoativa.

Consoante a concentração de um ou mais componentes específicos da amostra permite-nos análises tanto de carácter quantitativo como qualitativo. Quando as moléculas do analito interagem com a camada sensoativa por meio de processos físicos e/ou químicos que desencadeiam alterações, ocorre a alteração de um sinal, geralmente nas propriedades elétricas ou óticas que são detetadas por um transdutor apropriado e convertidas num sinal elétrico de saída [33-35]. Este sinal é então processado usando-se métodos de reconhecimento de padrões e dados analíticos são exibidos, por exemplo, num computador.

A Figura 1 ilustra o princípio geral de um sensor químico.

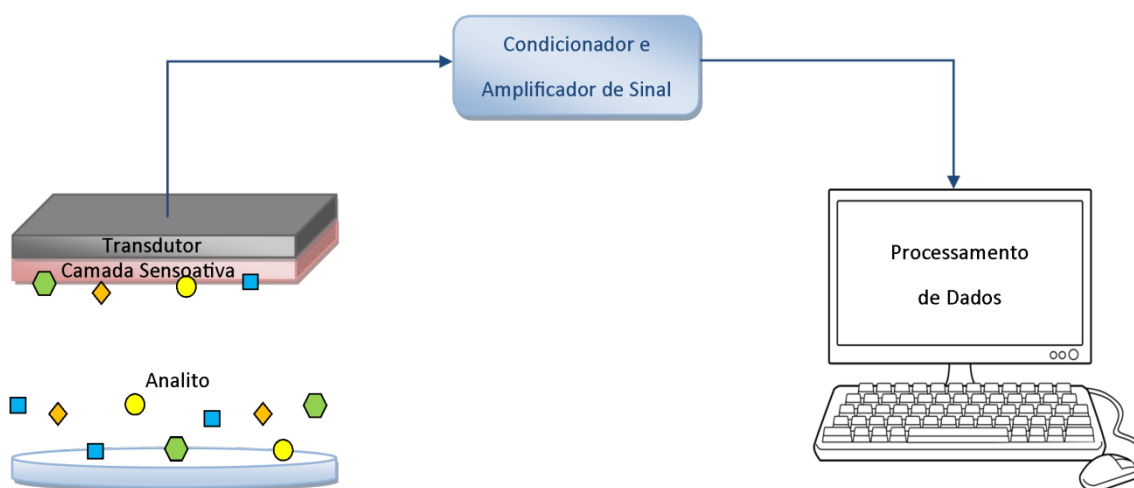


Figura 1 – Representação esquemática do funcionamento de um sensor químico.

Idealmente, um sensor químico deve possuir sensibilidade, seletividade, estabilidade, robustez, velocidade, reversibilidade e não deve ser sensível a eventuais mudanças de temperatura e a interferências de vários tipos. Como, na prática, nem sempre é possível satisfazer todos estes requisitos, quando a seletividade do polímero por si só for baixa, pode-se aumentar a seletividade através de sua funcionalização com moléculas que possuam interações específicas com o analito de interesse, através da imobilização de diversas espécies ativas, ou pela inclusão de dopantes apropriados. Estas abordagens, não somente podem aumentar a seletividade do sensor, como também podem melhorar o sinal de medida [34,36].

Ultimamente o desenvolvimento de sensores não específicos ou de reduzida seletividade têm ganho mais atenção, especialmente os que são baseados na sensibilidade cruzada, análise de multi-componentes e seletividade global. Além disso, os métodos de processamento de sinal baseados em inteligência artificial e de reconhecimento de padrões tais como redes neurais artificiais (ANN) e estatística multivariada têm contribuído

significativamente para a ciência e tecnologia de sensores [37-39] muito embora constituam sistemas particularmente complicados e com algum grau de dificuldade em miniaturizar.

2.2. Narizes Eletrônicos

O ser humano tem cinco sentidos fundamentais que efetuam interface com o ambiente: visão, audição, olfato, tato e paladar.

Através de recetores sensoriais, somos capazes de captar estímulos diversos. Tais recetores são constituídos por células nervosas capazes de traduzir ou converter esses estímulos em impulsos elétricos ou nervosos que serão processados e analisados em centros específicos do sistema nervoso central, onde será produzida uma resposta voluntária ou involuntária [40].

Um sensor artificial tem como função reproduzir um ou diversos sentidos do corpo humano ou mesmo superá-los.

No processo de receção de um estímulo seguido de reação, a Figura 2 mostra a correspondência entre o sistema sensorial biológico e o artificial [6].

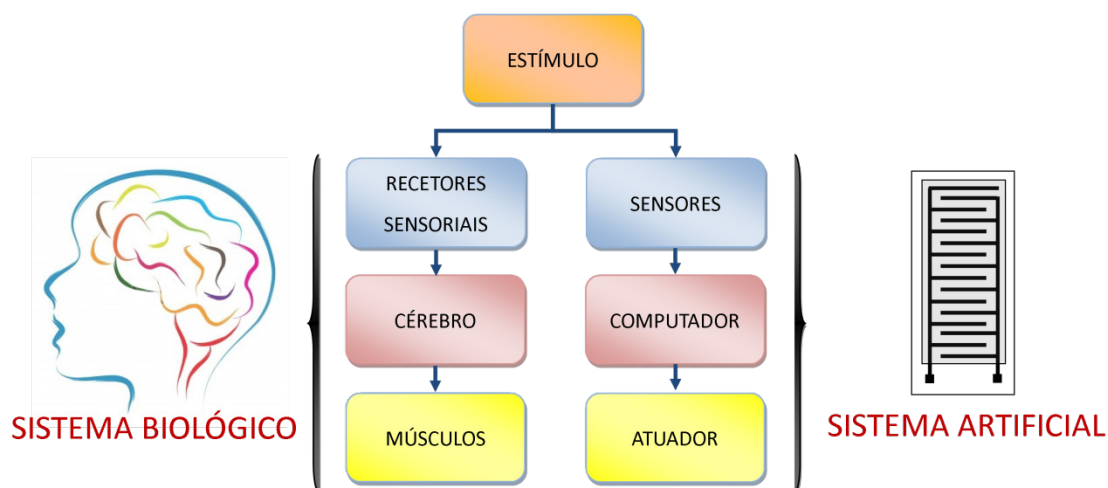


Figura 2 – Comparação entre o sistema sensorial biológico e o sistema sensorial artificial a partir da receção de um estímulo, seguido da reação a este (adaptação de [6] e [41]).

Os sensores não podem ser classificados de forma simples, dada a diversidade de materiais e de métodos sensoativos que presentemente são utilizados no seu fabrico. No entanto, podemos aproximar a classificação de sensores da seguinte forma:

- Natureza do analito ou da quantidade a ser medida em sensores de pH, humidade, líquido, gás;
- Natureza da espécie sensoativa: sensores químicos e biológicos;
- Propriedades medidas: resistividade, capacitância, refletância, fluorescência;

- d) Princípio de transdução: sensores potenciométricos, amperométricos, voltamétricos, condutimétricos, etc.;
- e) Mecanismo de reconhecimento molecular: sensores microbiais, por hibridização de DNA, enzimáticos, imunossensores, etc.
- f) Especificidade: específicos e semi-específicos (seletividade global).

Frequentemente é necessário mais de um tipo de classificação para uma identificação mais completa do tipo de sensor [34,42-45].

Os sensores de líquido e de gás são geralmente denominados de língua e nariz eletrônicos dado que estes sensores simulam a estimulação dos sistemas gustativos e olfativos devido à sua similaridade com os estágios de detecção, reconhecimento e transdução de sinais [7, 46-48].

Geralmente a língua e o nariz eletrônico são sensores não específicos que, sob a exposição ao analito de interesse, respondem diferenciadamente a uma mesma espécie química formando uma impressão digital característica que pode ser processada por métodos de reconhecimento de padrões e inteligência artificial fornecendo informações qualitativas e quantitativas sobre meios simples e complexos [39,49].

A natureza não específica do sensor não significa que cada unidade discrimina cada substância química do analito, mas que ele responde a grupos de substâncias sofrendo efeitos supressivos e de sinergia devido às interações entre as espécies químicas.

Os narizes eletrônicos têm uma característica adicional que é a detecção não somente de substâncias odorantes, mas também de quaisquer substâncias voláteis que interajam com a camada sensativa [50,51].

2.3. Polímeros condutores

Os polímeros condutores podem também ser denominados de “metais sintéticos” por possuírem a capacidade de combinar as propriedades mecânicas e processabilidade de polímeros convencionais com um comportamento elétrico, ótico e magnético semelhante ao dos semicondutores inorgânicos e dos metais.

Este conjunto de características faz com que os polímeros condutores possuam alto potencial tecnológico em diversas aplicações, como por exemplo, em baterias recarregáveis, em dispositivos eletrônicos, sensores químicos e térmicos, biossensores, janelas inteligentes, díodos emissores de luz, eliminação de cargas estáticas em microeletrônica, na proteção contra a corrosão, no recobrimento de materiais, entre outras.

Os polímeros condutores provêm de polímeros conjugados, os quais recebem esse nome por possuírem na sua estrutura química ligações simples e duplas alternadas ao longo da sua cadeia principal que depois de dopados se tornam condutores. Com a dopagem podem-se formar portadores de carga positiva, conhecidos como *pólarons* e *bipólarons*, possibilitando que alguns destes polímeros possam atingir níveis de condutividade elétrica elevados, em alguns casos de ordem de milhares de S/cm [52,53].

Por outro lado a sua facilidade de processamento em dispositivos, o relativo baixo custo e sobretudo a infindável possibilidade de funcionalização, bem como a inesgotabilidade,

fazem destes materiais os principais componentes para aplicações na chamada física/eletrônica orgânica, onde os sensores estão a ganhar um terreno assinalável.

Historicamente, o primeiro polímero condutor foi obtido em 1977 [54], pela exposição do poliacetileno na forma isolante (condutividade, $\sigma = 10^{-5}$ S/cm), a agentes dopantes, oxidantes ou redutores, tornando-o condutor elétrico ($\sigma = 10^2$ S/cm). No entanto, pela instabilidade térmica e ambiental, improcessabilidade (insolubilidade e infusibilidade) do mesmo, outros polímeros condutores foram investigados com o objetivo de superar estas limitações [55].

3. Materiais e Métodos

Os sensores utilizados neste trabalho foram feitos em laboratório a partir de contatos microelétricos interdigitados produzidos no CeNTI (Centro de Materiais Técnicos, Funcionais e Inteligentes) pela técnica de *Screen Printing*, depositados em PET. A deposição do polímero foi realizada pelo processo de *Spin Coating* nos laboratórios do Departamento de Física da Universidade de Aveiro.

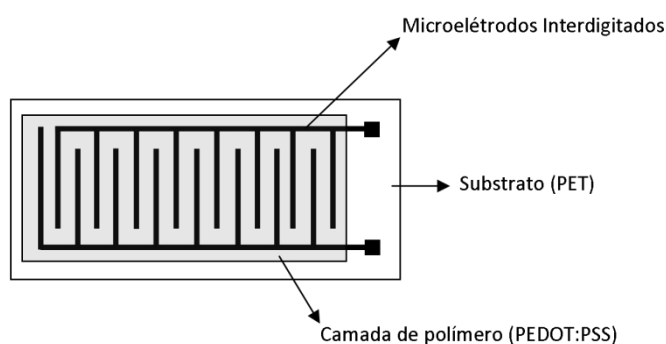


Figura 3 – Ilustração dos sensores produzidos e respetiva aplicação.

3.1. Materiais

3.1.1. PEDOT:PSS

Durante a segunda metade dos anos 80, cientistas dos laboratórios de investigação Bayer AG, na Alemanha, desenvolveram um novo derivado do *polythiophene*, *poly (3, 4 ethylenedioxythiophene)*, com a seguinte estrutura química (Figura 4):

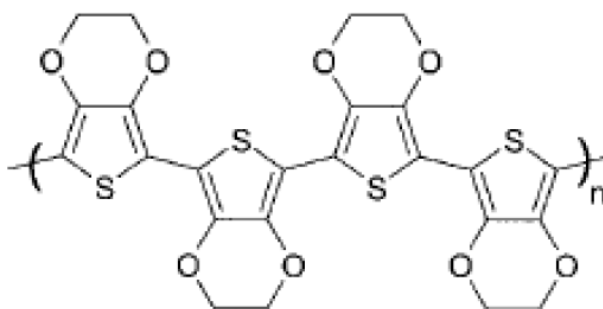


Figura 4 – Estrutura molecular do PEDOT [56].

Este polímero, mais conhecido por PEDOT, foi inicialmente desenvolvido para obter um polímero condutor solúvel.

Preparado utilizando métodos de polimerização química oxidativa ou eletroquímica, o PEDOT, foi inicialmente considerado como um polímero insolúvel, exibindo no entanto propriedades interessantes. Para além de apresentar uma elevada condutividade (cerca de 200 S/cm), verificou-se que o PEDOT era quase transparente no seu estado oxidado.

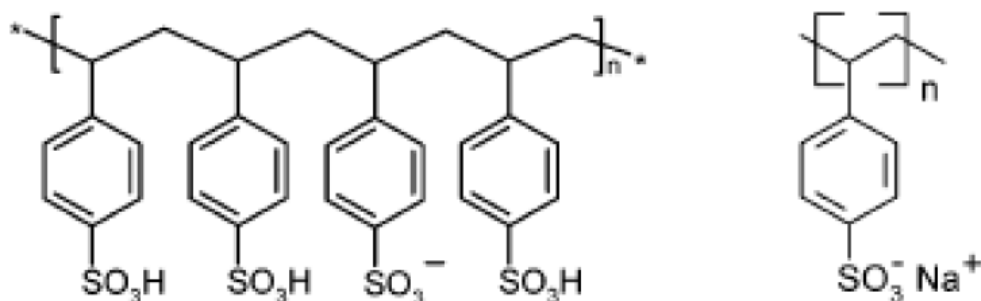


Figura 5 – Estrutura molecular do PSSH e do PSS Na⁺ [56].

O problema da insolubilidade foi posteriormente contornado usando um polieletrólito solúvel em água, *poly (styrene sulfonic acid)* (PSS) (Figura 5), como o dopante de equilíbrio de carga durante a polimerização para produzir PEDOT: PSS (Figura 6).

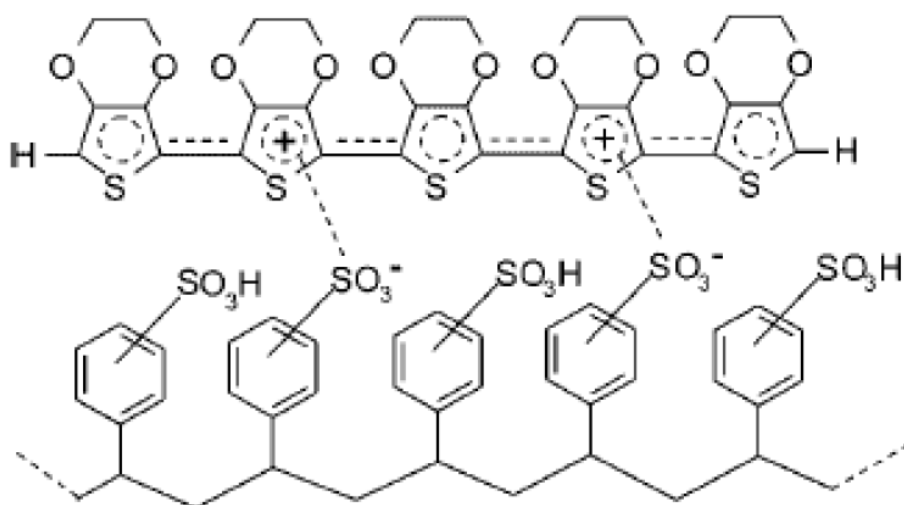


Figura 6 – Estrutura molecular do PEDOT: PSS [56].

Esta combinação produz um polieletrólito solúvel em água com boas propriedades de formação de filme, elevada condutividade (cerca de 10 S/cm), elevada transmissividade no visível e excelente estabilidade. Os filmes de PEDOT: PSS podem ser aquecidos em ar a 100 °C durante 1000 horas com apenas ligeiras alterações na condutividade. Com este novo sistema, agora conhecido sob o nome comercial de BAYTRON P (P de polímero), os pesquisadores da Bayer têm desenvolvido diversas aplicações. Ainda que inicialmente fosse usado como um revestimento anti-estático em filmes fotográficos da marca AGFA, nos últimos anos, têm sido implementadas novas aplicações, como por exemplo, o material dielétrico em condensadores, material para revestimento dos furos realizados em placas de circuito impresso, entre outras. Na última década, motivados pelas propriedades e pela utilidade do PEDOT: PSS, vários grupos de investigadores entraram na área da química do PEDOT:PSS. Tal interesse deu origem a um aumento exponencial do número de patentes e publicações periódicas.

Tanto o PEDOT como o PSS contêm um átomo de enxofre por unidade de repetição. No PEDOT, o átomo de enxofre está dentro do anel de tiofeno, enquanto no PSS, o átomo está incluído no radical de sulfonato.

Sabe-se muito pouco sobre a estrutura molecular e da morfologia em bruto da superfície do PEDOT:PSS. A estrutura e morfologia dos filmes finos não são necessariamente as mesmas das do material em bruto. Para o PEDOT, filmes feitos por *spin-coating* ou por imersão apresentam diferentes tipos de orientação, apesar de terem a mesma estrutura cristalina básica (Figura 7).

Estudos realizados, utilizando a técnica de Difração de Raios-X com ângulo rasante de incidência, mostraram que os íões dopantes formam planos distintos, que se alternam em camadas de cadeias de polímero.

O material apresenta-se como bastante anisotrópico com os planos dos dopantes e as camadas das cadeias do polímero paralelas ao substrato e está num estado paracristalino (sólido), com um tamanho reduzido das regiões paracristalinas individuais.

Este modelo corrobora bem com a forte anisotropia óptica observada.

Apesar da anisotropia observada na resposta óptica, possíveis anisotropias na condutividade foram sistematicamente estudadas até à relativamente pouco tempo.

Estudos AFM multimodais realizados para mapear as propriedades de transferência de carga locais na correlação para a superestrutura molecular da mistura de polímero, mostram que a injeção de carga eficiente ocorre nas regiões onde as arestas lamelares são expostas à sonda.

A mobilidade de carga é consideravelmente mais elevada ao longo das lamelas de polímero, quando comparado à mobilidade normal para o PEDOT. Nas regiões onde a ponta de AFM tem acesso às extremidades lamelares, ocorre transporte de carga mais eficiente. Daí se observaram correntes mais elevadas. Pelo contrário, quando a ponta AFM varre a superfície de lamelas intactas, a barreira alta entre lamelas, limita o transporte. A distância interlamelar estima-se que seja de 3nm.

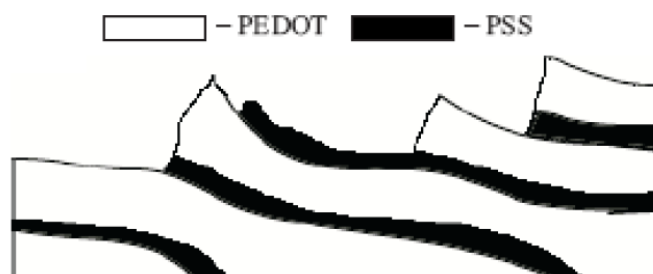


Figura 7 – Estrutura laminar da mistura PEDOT: PSS [56].

Estes estudos sugerem que a condução perpendicular ao substrato é dominada por efeitos de carga no espaço, ao contrário de condução por *hopping* observada quando esta ocorre paralela ao substrato.

Estudos mais recentes combinam microscopia de varrimento por sonda com medidas macroscópicas de condutividade dependentes da temperatura para construir um modelo morfológico 3D que explique a condutividade anisotrópica observada em filmes de PEDOT:PSS depositados por *spin-coating*.

A condutividade vertical (perpendicular ao substrato) pode ser três ordens de grandeza mais baixa que a condutividade lateral no plano do filme.

Microscopia por Efeito de Túnel mostra que os filmes de PEDOT:PSS têm uma morfologia granular, com dimensões típicas entre os 10-25nm. A baixa rugosidade da superfície (cerca de 1,75 nm) implica que os grãos tenham de facto a forma de bolas

achatadas, ou estruturas tipo *waffer*. A transformação de partículas esféricas em partículas achatadas nos filmes finos resulta, provavelmente, do processo de *spin-coating*, durante o qual a evaporação da água faz com que a espessura diminua enquanto o filme permanece contínuo na direção lateral [56].

3.1.1.1. Preparação

A solução de PEDOT:PSS empregue neste trabalho, Clevios™ P VP AI 4083 [57], já é adquirida preparada, acrescentando-se apenas uma percentagem ínfima (menor do que 0.1%) de Triton™ X-100 [58], que funciona como surfactante para otimizar a adesão do PEDOT:PSS ao substrato.

3.1.2. Substrato

Para este estudo utilizou-se o PET (*Polyethylene Terephthalate* - *Politereftalato de Etileno*) como substrato. Extremamente barato, conta entre as suas principais características, a baixa densidade, a transparência, o brilho, leveza, a sua performance em diferentes *designs*, a segurança e a facilidade de moldagem, além de proporcionar uma alta resistência mecânica, química e elétrica. O PET apresenta também uma excelente barreira para gases e odores [59, 60].

É igualmente de fácil emprego no *Screen Printing* para a deposição dos microelétrodos interdigitados.

3.1.3. Microelétrodos Interdigitados

Os microelétrodos interdigitados utilizados para o fabrico dos biossensores foram produzidos no CeNTI [61] através da técnica de *Screen Printing* (explicada adiante), como já referido.

Estes dispositivos atuam como transdutores gerando uma capacitância para cada substância analisada.

A Figura 8 apresenta uma ilustração simplificada dos microelétrodos interdigitados utilizados e respetivas dimensões.

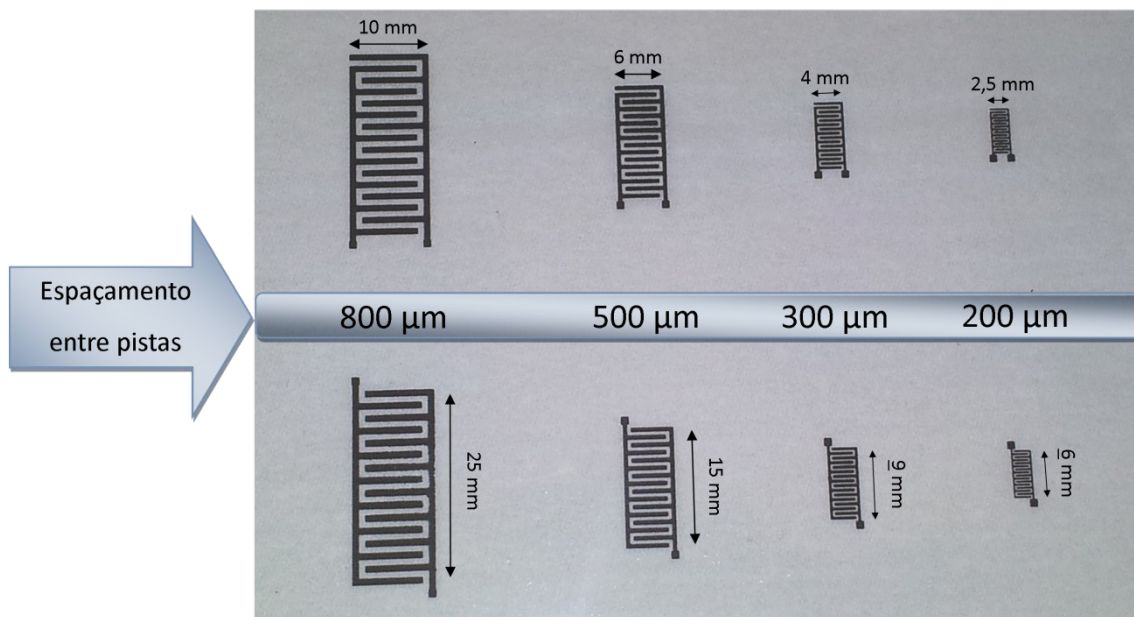


Figura 8 – Microelétrodos interdigitados utilizados no fabrico dos biossensores e respectivas dimensões.

De realçar que a largura das pistas é igual ao espaçamento entre as mesmas.

Para efeitos de comparação, foram feitos dois tipos de microelétrodos: com tinta de prata (*DuPont 5025 silver*) e com tinta de carbono (*DuPont 7102 carbon*).

3.1.3.1. Caraterização capacitiva e resistiva

O sensor interdigitado é reconhecido como sendo um bom sensor capacitivo e resistivo, explorando a dependência da constante dielétrica e/ou resistiva de materiais quando sujeitos a diferentes ambientes (de humidade, pressão, etc.).

A capacitância neste cenário é uma grandeza elétrica resultante da interação das pistas impressas no acetato com o PEDOT:PSS e com o ar.

Numa primeira análise, é verificada uma interação entre estas pistas da mesma forma que interagem numa placa de circuito impresso (Figura 9).

Adaptando esse cenário para este estudo, o meio dielétrico será o PEDOT:PSS com o analito (ϵ_r – constante dielétrica), h a espessura do polímero com o analito, w a largura das pistas e S a distância entre pistas, em que $w=S$.

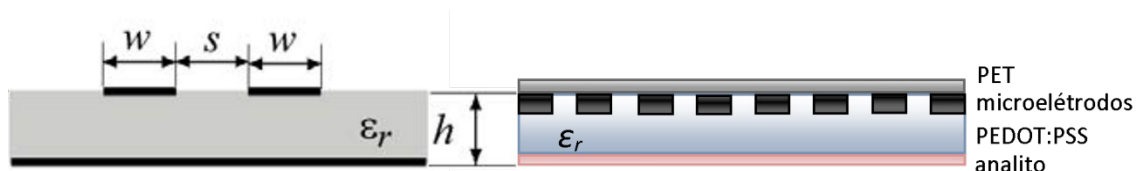


Figura 9 – Representação das pistas numa placa de circuito impresso e respetiva analogia para o sensor estudado (adaptado de [62]).

Uma explicação física mais exaustiva pode ser vista, por exemplo, na referência [62].

A resistividade é influenciada pela “dopagem” do PEDOT:PSS.

Este processo de adsorção observado altera a resistividade total medida no circuito, sendo caracterizado (assumindo que o acetato PET é um isolador ideal) por uma única resistividade de condução entre elétrodos constituída pelo próprio PEDOT:PSS.

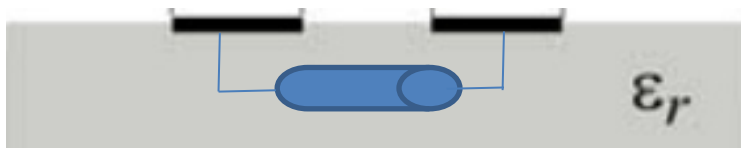


Figura 10 – Representação da resistividade.

De forma a realizar a caracterização resistiva, foi tido em conta que as propriedades elétricas de um filme de polímero condutor podem ser irreversivelmente alteradas pelo deslocamento de espécies ionizadas para o seu interior, bem como por polarização permanente do filme, quando este é submetido à corrente contínua. Desta forma foram realizadas medidas em corrente alternada que impedem esses efeitos. Além disso, a flexibilidade de operar sensores feitos de polímeros condutores, em diferentes frequências, permite que estes possam ser sensíveis e seletivos a certas substâncias, o que normalmente não ocorreria em medidas de corrente contínua.

A literatura tem mostrado que a sensibilidade e a seletividade de sensores de gás são melhoradas quando estes são operados em corrente alternada, permitindo inclusive a redução do número de sensores utilizados.

Dentro das técnicas de medidas em regime de corrente elétrica alternada, a espectroscopia de impedância tem-se mostrado bastante promissora com respeito à caracterização das propriedades elétricas de filmes poliméricos, como membranas, hidrogéis e polímeros condutores.

Os dados experimentais obtidos com essa técnica podem ser modelados por meio de um circuito equivalente que permite identificar variações no filme depositado sobre microelétrodos interdigitados.

Na Figura 11 está esquematizado um circuito equivalente que descreve as características elétricas de um condutor coberto com um filme também este condutor na presença de um analito.

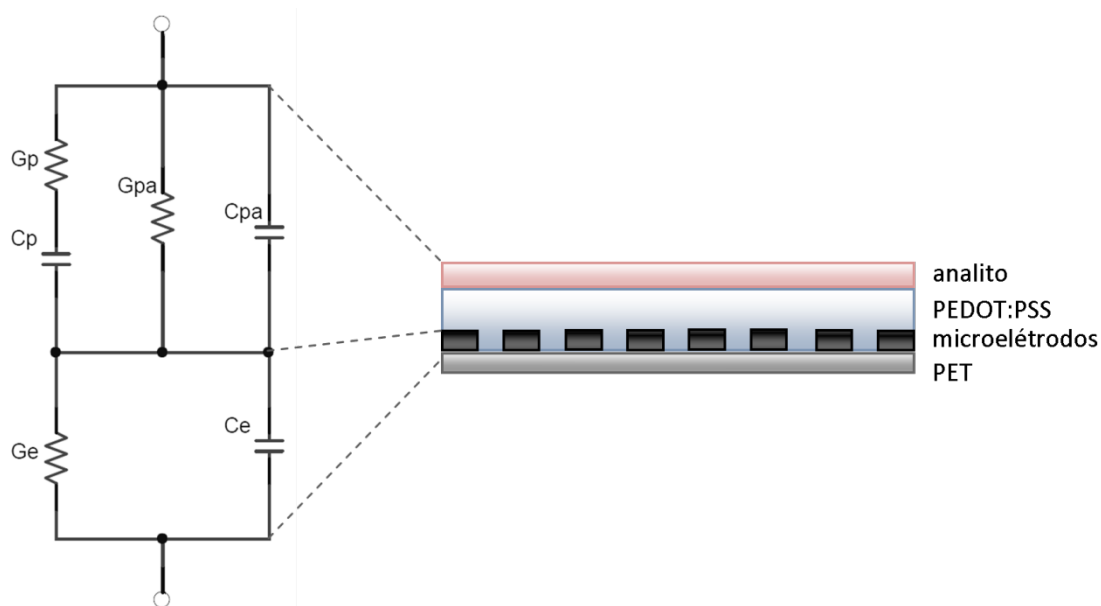


Figura 11 – Circuito equivalente para o sensor estudado.

Este circuito foi obtido da análise dos processos que contribuem para a característica de impedância e capacitância do sistema, ponderando o sistema constituído pelo PET, microelétrodos, e pela recombinação do PEDOT:PSS com o analito.

C_{pa} é a capacidade geométrica do conjunto de microelétrodos interdigitados com o polímero depositado na presença do analito.

G_{pa} representa uma condutância que permite a transferência de carga através da interface polímero/analito.

C_p representa a capacidade do polímero e G_p a sua condutância.

A condutância total é aproximadamente $G_{pa} + G_p$.

A capacitância total é aproximadamente C_{pa} .

G_e representa a condutância dos microelétrodos e C_e a sua capacidade.

3.1.4. Analitos

Cada vez mais mulheres sofrem de Candidose Vaginal (ACV) recorrente. Esta doença extremamente problemática é tipicamente uma infeção fúngica do sistema reprodutor feminino, que se manifesta através de uma secreção de corrimento genital com forte odor de fermentação, grosso, de cor branco-amarelada, que pode ser acompanhado de irritação, sensação de queimadura e inchaço na área genital das mulheres.

A Candidose Vaginal é causada por um fungo denominado Candida. Este fungo está normalmente presente em pequenas quantidades na boca, vagina, trato gastrointestinal e pele. A pessoas com boa saúde, flora bacteriana normal e com a ajuda do sistema imunológico é possível evitar a proliferação do fungo e a posterior infeção. No entanto, quando o sistema imunitário está enfraquecido ou danificado, torna-se mais fácil para a Candida crescer e causar uma infeção. Verifica-se que é uma infeção que pode ocorrer com alguma generalidade nas mulheres.

Tipicamente, esta é uma patologia que pode ser detetada ainda no início do seu aparecimento devido ao cheiro característico, e assim é claramente uma excelente candidata para testes com biossensores de odor.

A Figura 12 mostra uma cultura típica da Candidose Vaginal.



Figura 12 – Cultura de fungos do tipo Candida observados em Candidose Vaginal.

Assim, neste trabalho foi usado como analito principal uma cultura de Candidas relacionada com a Candidose Vaginal.

Paralelamente e, para posterior comparação, testaram-se os sensores com outros odores disponíveis em laboratório e no cotidiano (café, acetona, isopropanol e perfumes) com vista a aferir da reação do sistema. De notar que estes analitos não estão relacionados com qualquer patologia do foro ginecológico e apenas pretendem evidenciar o comportamento dos sensores à sua presença.

3.1.5. Equipamento

O equipamento, para teste dos biossensores, foi desenvolvido na oficina do Departamento de Física (Figura 13).

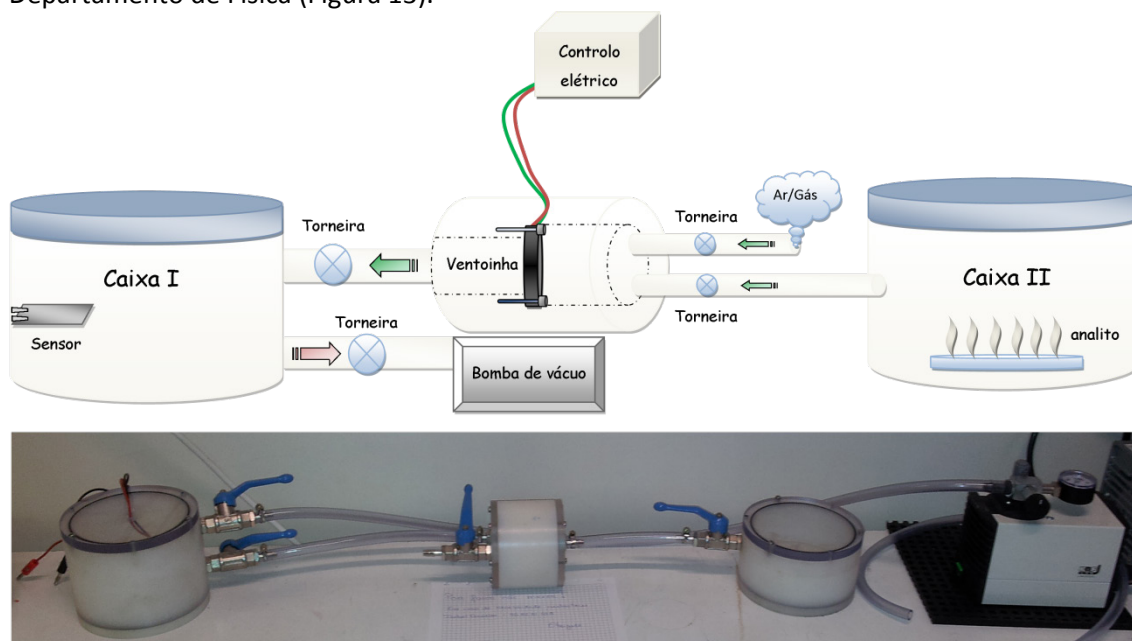


Figura 13 – Representação esquemática e montagem real do equipamento utilizado.

O sensor é colocado na Caixa I, fixo por garras planas condutoras (planas para não danificar o sensor). Na Caixa II, é colocado o analito, sendo o “odor” transportado para a Caixa I através de uma ventoinha [63].

A este sistema, acoplou-se uma bomba de vácuo, usada sempre que necessário com o objetivo de purificar o ambiente das caixas removendo odores residuais de testes efetuados anteriormente, para que possam ser testados novos analitos reduzindo o risco de contaminação.

A pensar em trabalho futuro, foi incluída uma ligação à caixa da ventoinha para que se possa condicionar o ambiente das caixas, isto é, introduzir p.ex. diferentes gases.

Os sensores são suportados por garras de cobre lisas de excelente condutividade elétrica [64].

A Figura 14 demonstra todo o aparato experimental para que se efetuassem as respetivas medições.

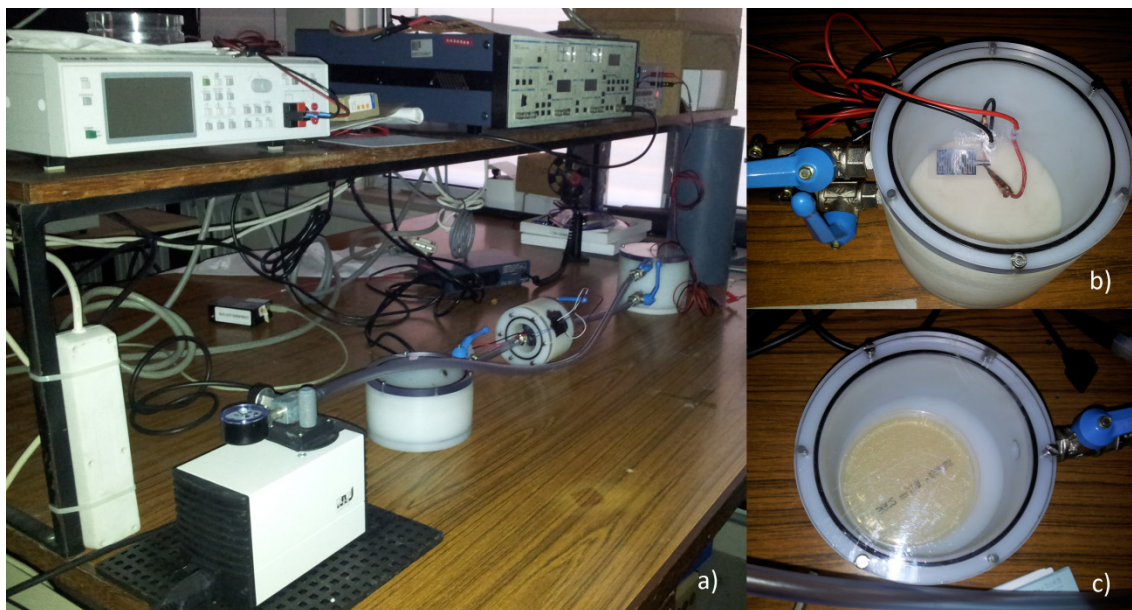


Figura 14 – Montagem Experimental: a) Equipamento completo e respectivos equipamentos de medida; b) Sensor dentro da Caixa I; c) Analito ACV dentro da Caixa II.

A análise dos sinais elétricos dos sensores foi efetuada em ambientes específicos (adiante será dado maior foco sobre o assunto) e foram testadas as variações de resistência e de capacidade. Para a medição de resistência foi usado um *Voltage Source Meter Keithley 2410* e para as medidas de capacidade um *RLC Meter Fluke PM6306*. Os equipamentos são controlados por computador com *Software* dedicado.

A Figura 15 mostra o esquema geral utilizado.

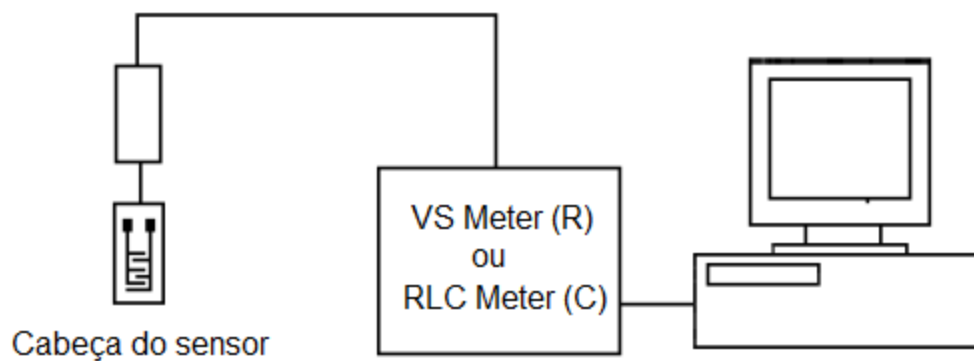


Figura 15 – Esquema genérico da montagem experimental.

3.2. Métodos

3.2.1. Screen Printing

A técnica de *Screen Printing*, mais conhecida como *Silk Screen*, tem sido utilizada com grande sucesso no fabrico de elétrodos nestas últimas décadas. Ao mesmo tempo que possibilita a produção em massa de elétrodos a um custo extremamente baixo, é simples e pode ser praticada em qualquer laboratório, sendo desta forma apropriada para a produção de elétrodos descartáveis.

O Eléctrodo Impresso (EI), *Screen Printed Electrode*, é simplesmente um filme depositado sobre um suporte fixo, geralmente de PVC ou cerâmica de alumina.

O processo de *Screen Printing* consiste basicamente em forçar a tinta a passar através de uma tela (MESH) para ser depositada sobre um substrato plano (PET). O desenho definido pelas partes abertas da tela é reproduzido no substrato. Uma combinação do uso sucessivo de diferentes telas e diferentes tintas é normalmente utilizada na preparação dos elétrodos. Em geral, a etapa final de impressão consiste na aplicação de uma camada parcial de um isolante para definir uma área a ser usada como contacto eléctrico numa extremidade e outra área para ser a superfície do eléctrodo na outra extremidade [65].

A Figura 16 ilustra o procedimento de preparação dos EIs.

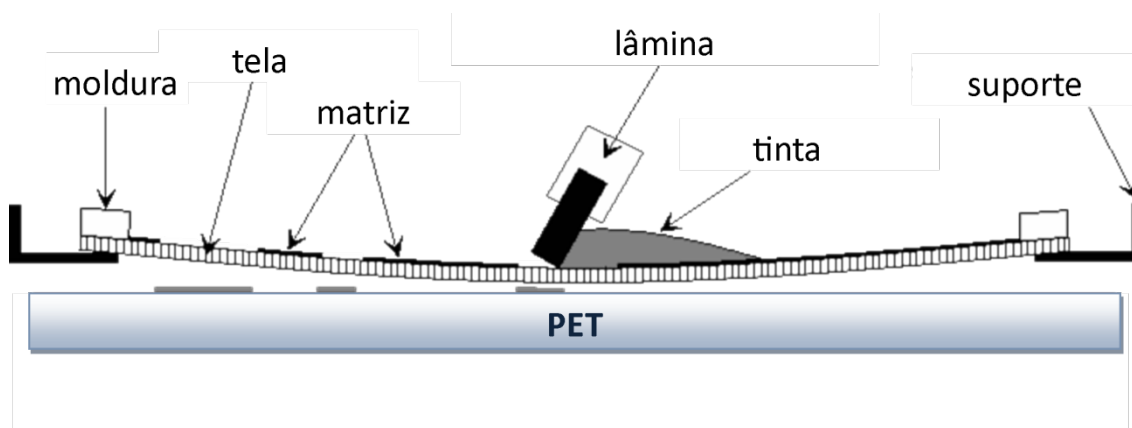


Figura 16 – Ilustração da técnica de Screen Printing (adaptado de [66]).

Um dos principais aspetos que tornam os EIs extremamente atrativos quando se busca o desenvolvimento de sensores comerciais, é a possibilidade de total automação na fabricação de um sistema completo contendo os elétrodos de trabalho, auxiliar e referência, todos impressos no mesmo suporte. Esta característica, associada à simplicidade de elaboração e às inúmeras possibilidades de modificação dos EIs, promete colocar a técnica numa posição privilegiada entre as demais.

Os microelétrodos utilizados neste trabalho foram feitos no equipamento Screen Printing RP 2.2 [67] no CeNTI (Figura 17).

Este equipamento possui as seguintes características:

- a) Área máxima de impressão: 700 x 320 mm;
- b) Capacidade máxima de impressão: 1800 impressões / hora (automático);

- c) Telas com diferentes tipos de malha (*mesh*) permitindo resoluções de impressão na ordem das dezenas μm ;
- d) Ideal para contatos/elétrodos metálicos.

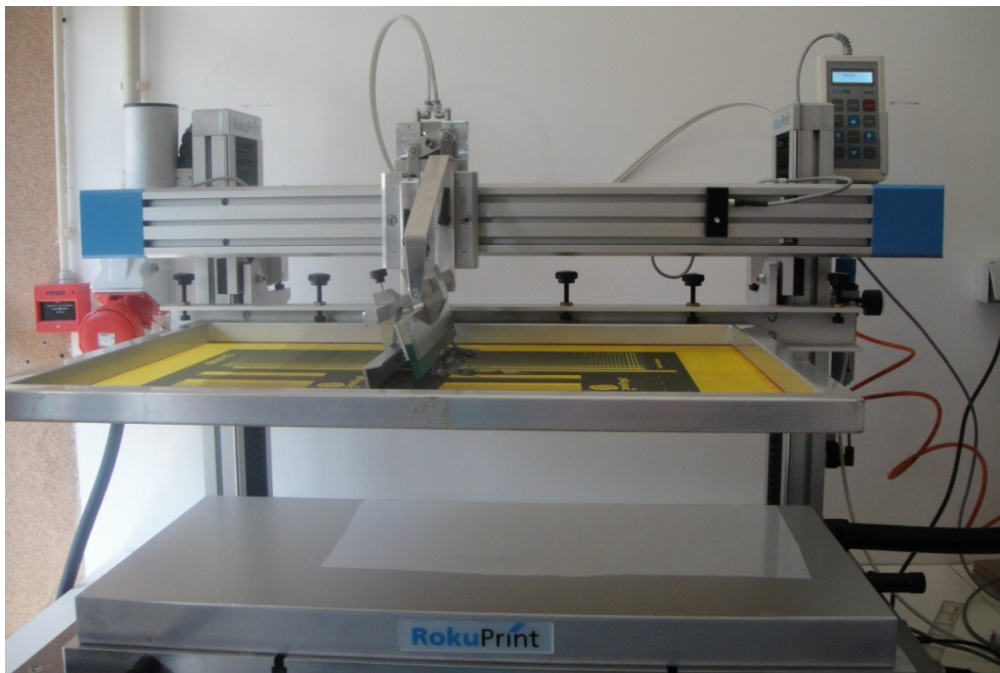


Figura 17 – Equipamento Screen Printing RP 2.2 no CeNTI.

Para este trabalho, foram feitos dois tipos de microelétrodos: com tinta de prata (*DuPont 5025 silver*) (Figura 18) e com tinta de carbono (*DuPont 7102 carbon*), para posterior comparação.



Figura 18 – Tela (MESH) com o *patterning* da malha (a amarelo) e a pasta de prata.

3.2.2. Spin Coating

O *Spin Coating* é um processo muito utilizado no fabrico de filmes finos uniformes, aderentes, sem defeitos e de espessura controlável sobre uma superfície lisa.

A simplicidade deste processo apresenta algumas vantagens e desvantagens (Tabela 1):

Tabela 1 – Vantagens e desvantagens da utilização da técnica de *spin coating*.

Vantagens	Desvantagens
Simplicidade	Exige um controlo simultâneo de vários parâmetros (velocidades de rotação, viscosidade do solvente, condições ambientais, pureza dos materiais)
Algum controlo de espessura (de alguns nm a centenas de microns)	Elevado desperdício de material

Tipicamente, este processo envolve a deposição de uma pequena porção de um material viscoso no centro do substrato e, de seguida, coloca-se o mesmo a girar (*spin*) a alta velocidade (geralmente em torno das 1000 a 4000 rpm).

A aceleração centrípeta fará com que o material depositado se espalhe pelo substrato, deixando assim uma película fina na superfície.

A espessura final do filme dependerá da natureza do material depositado (viscosidade, velocidade de secagem, percentagem de sólidos, tensão superficial, etc.) e dos parâmetros escolhidos para o processo de *spin*. Fatores como a velocidade de rotação, a aceleração e evaporação, definem as propriedades do filme.

Um dos fatores mais importantes no *Spin Coating* é a repetibilidade. Variações subtis nos parâmetros que definem o processo de spin podem resultar em variações drásticas no filme depositado.

De forma simplista, podemos dividir este processo em quatro estágios (Figura 19):

- a) *Deposição do fluido;*
- b) *Dispersão do fluido;*
- c) *Uniformização do filme;*
- d) *Evaporação do solvente.*

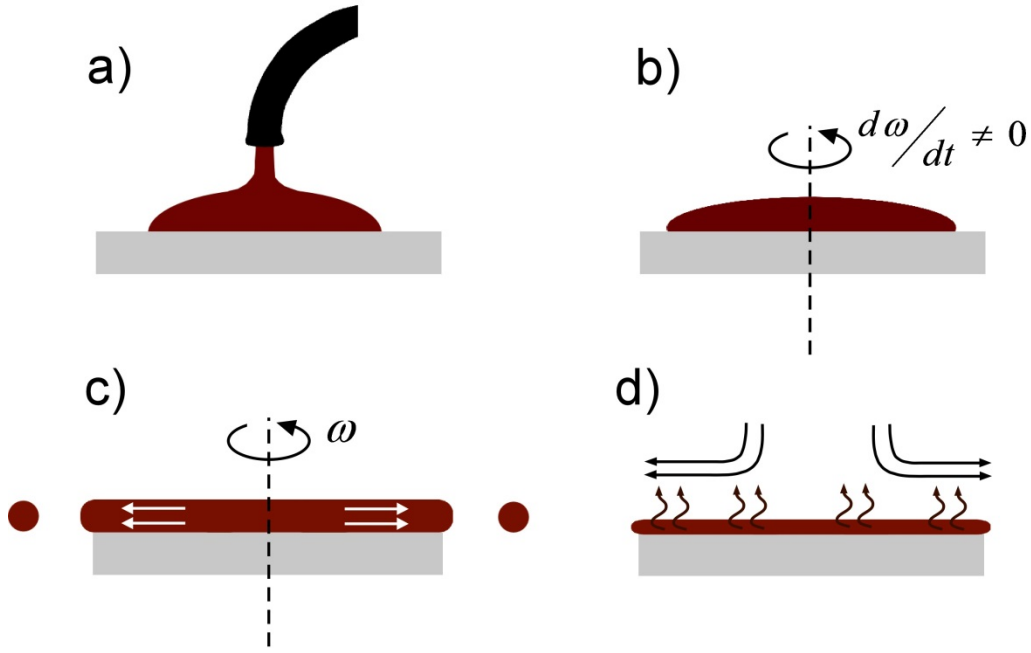


Figura 19 – Diferentes estágios da técnica de *spin coating*. a) Deposição do fluido; b) Dispersão do fluido; c) Uniformização do filme; d) Evaporação do solvente (adaptado de [68]).

No primeiro estágio, com o substrato em repouso, depositamos o PEDOT:PSS, com uma micropipeta, no centro da superfície.

No segundo estágio, a velocidade de rotação é gradualmente aumentada (com uma rampa de aceleração de 0,3 segundos) até às 2000 rpm e a maior parte do fluido é expulso do substrato. As diferentes camadas do fluido rodam a diferentes velocidades de rotação (a camada superior não roda à mesma velocidade que a camada inferior em contacto com o substrato). Com a expulsão das camadas superiores de fluido a inércia diminui e o filme fica suficientemente fino para que as camadas rodem à mesma velocidade que o substrato.

Quanto ao terceiro estágio, com o filme uniformemente espalhado pelo substrato e a rodar à velocidade deste, a velocidade de rotação é mantida constante (cerca de 2000 rpm durante 30 segundos) pelo que a espessura do filme vai diminuindo. Nesta fase o processo dominante é a ação da força devida à viscosidade do fluido.

Por fim, após algum tempo a velocidade constante, o filme atinge uma espessura tal que as forças de viscosidade deixam de dominar e não se consegue diminuir mais a espessura. Segue-se então a evaporação do solvente. Sendo o PEDOT:PSS uma solução aquosa, nesta fase, as amostras foram colocadas numa estufa a 100 °C durante 10 minutos.

Com a evaporação do solvente a viscosidade do fluido aumenta (habitualmente) facilitando a efetiva adesão ao substrato.

A espessura final, h_f , é então dada tendo em consideração a concentração de sólido (c_0) do fluido [65, 69] sendo η a viscosidade do fluido, ρ a densidade do fluido, ω a velocidade de rotação e C uma constante determinada experimentalmente para cada equipamento [68,69].

$$h_f = c_0 \left(\frac{C\sqrt{\omega}}{2(1-c_0)\frac{\rho\omega^2}{3\eta}} \right)^{\frac{1}{3}}$$

Para os parâmetros usados e atendendo ao tipo de polímero/solução empregue, a espessura final (obtida por perfilometria em trabalhos anteriores) é da ordem de 50 – 70 nm.

Para a obtenção de um filme fino por *spin coating* há que ter em atenção a limpeza do substrato e do próprio meio ambiente. Qualquer partícula de sujidade pode afetar a qualidade da deposição. Para tal, o substrato (microeletrodos/PET) foi limpo com água destilada e seco com ar comprimido e, todo o processo de deposição, foi realizado numa sala limpa.



Figura 20 – *Spin Coater* utilizado neste trabalho.

A Figura 20 mostra o equipamento de *spin coating* utilizado para este trabalho.

4. Resultados e Discussão

4.1. Introdução

Tendo como objectivo o desenvolvimento de sensores que detetassem e identificassem diferentes analitos, de forma a diagnosticarem patologias ginecológicas, foram desenvolvidos neste trabalho dois tipos de sensores com quatro tamanhos diferentes.

Os sensores C800, C500, C300 e C200, são compostos por microelétrodos de carbono, (800 μm , 500 μm , 300 μm e 200 μm de espaçamento e largura dos contatos interdigitados) com uma camada de polímero PEDOT:PSS.

Os sensores P800, P500, P300 e P200, são compostos por microelétrodos de prata, (igualmente com 800 μm , 500 μm , 300 μm e 200 μm de espaçamento e largura dos contatos interdigitados) com uma camada de polímero PEDOT:PSS.

Quando medido num centímetro de espaçamento, os microelétrodos interdigitados de carbono apresentam uma resistência de 6,60 k Ω e os de prata uma resistência de 1,5 Ω . O que seria de esperar, uma vez que a prata (metal) é muito mais condutora que o carbono.

Numa primeira experiência foram realizadas medidas de resistência e de capacidade apenas com os microelétrodos interdigitados, sem camada de polímero, e não se obtiveram quaisquer resultados. Conclui-se desde já a importância da camada sensórica de um polímero condutor.

Fez-se então um estudo comparativo entre sensores com microelétrodos de carbono e sensores com microelétrodos de prata. Após avaliação do desempenho, escolheram-se os sensores, com o respetivo microelétrodo, que reagiu melhor e mais rapidamente.

Com o microelétrodo escolhido, averiguou-se qual o tamanho mais indicado, em função da sua resposta e dos valores de deteção.

Com a identificação do tamanho mais indicado, realizaram-se testes com diferentes analitos para observar se o sensor detecta e identifica diferenciadamente os analitos.

Em termos de metodologia de tratamento de dados pretendeu-se verificar não só a alteração absoluta das propriedades elétricas dos sensores na presença ou não de qualquer analito (e em particular da cultura de *Candida*) mas também da sua estabilidade e tempos de resposta.

Para cada medida, seja de resistência ou de capacidade, o sensor foi exposto três vezes ao ambiente e três vezes ao analito, alternadamente, de forma a verificar a reação do sensor a mudanças de ambiente. Pretendeu-se com isto verificar se, após exposição ao analito, o sensor revertia aos mesmos valores quando exposto ao ambiente.

Em todas as medições, o sensor esteve exposto (cerca de 4 minutos) da seguinte forma (Figura 21):

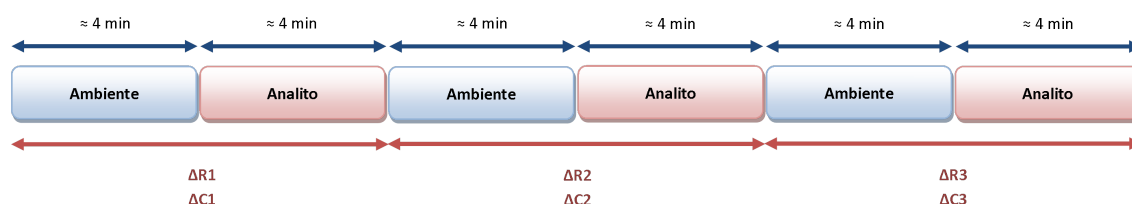


Figura 21 – Variações em modo resistivo e capacitivo nas transições de ambiente.

As zonas de transição entre os ambientes ar \rightarrow analito e analito \rightarrow ar foram igualmente analisadas em função da variação absoluta (Δ), averiguando a rapidez de resposta (análise diferencial).

Um aspeto importante em qualquer sensor, diz respeito à capacidade que este possa (ou deva) ter de ser reversível. Isto é, após a exposição a um analito que se pretende detetar com a consequente alteração dos seus sinais elétricos, e posterior exposição ao ambiente de referência, verificar se o sensor volta a apresentar os sinais prévios quando deixa de estar na presença do analito.

Tradicionalmente a interação de moléculas de um analito com a superfície de um sensor pode traduzir-se numa absorção ou adsorção. No caso de se verificar absorção o sensor só pode ser usado para um único teste uma vez que a absorção correspondendo à interpenetração das moléculas do analito nos materiais do sensor é um processo irreversível.

Especificamente no caso dos sensores usados neste trabalho, pretendeu-se que a interação analito \leftrightarrow sensor obedecesse a um processo de adsorção de forma a que um mesmo sensor possa efetuar várias análises sequenciais, incrementando assim a fiabilidade da leitura.

Este processo de adsorção ocorre quando moléculas de um analito são de alguma forma recombinadas com a superfície sólida do sensor, e onde uma parte daquele ficará ligada à superfície na forma de uma camada adsorvida. O sensor é o adsorvente e o gás do analito o adsorvido. Qualquer sólido é capaz de adsorver uma certa quantidade de gás. Esta quantidade depende da temperatura e da pressão existentes no substrato adsorvente e das características específicas da superfície.

As forças envolvidas na adsorção de gases e vapores por sólidos podem ser ligações não específicas e não-direccionais (*Van der Waals-London*), permitindo por exemplo, que as moléculas de gás (analito) se libertem quando o sensor deixa de estar próximo da fonte. A adsorção física de gases é usualmente rápida. Dado que não é necessária nenhuma energia adicional para que o processo ocorra, a adsorção física de gases é quase sempre reversível [70].

4.2. Desenvolvimento e avaliação do desempenho em sensores com microelétrodos de carbono e de prata

Numa primeira fase, foi estudado o efeito que diferentes microelétrodos, carbono ou prata, teriam na deteção do analito ACV.

Foram efetuadas medidas de resistência (Figura 22) e de capacidade (200mV, 1000Hz) (Figura 23) para as amostras 14, 15, 16 e 17 (C800, C500, C300 e C200, respetivamente) com microelétrodos de carbono.

Para as medidas de resistência, o equipamento aplica de uma forma automática um potencial de 21 V e uma corrente de 2.1 μ A. Para as medidas de capacidade foram efetuados alguns testes preliminares com vista a definir os melhores parâmetros a serem usados. Para o efeito, foram inicialmente efetuadas medidas de espectroscopia de impedância tendo-se verificado que o sensor relaxa a frequências muito baixas (na maioria dos casos não se conseguem mesmo observar); assim, e numa relação de compromisso entre a relaxação e a estabilidade do sinal, foi escolhida uma frequência de 1000 Hz.

Outro parâmetro foi o sinal AC empregue que foi fixo em 0.2 V; abaixo deste valor corre-se o risco de algum ruído e acima deste não se observa nenhuma melhoria do sinal correndo-se mesmo o risco de, em alguns sensores, a interface metal – polímero poder funcionar como uma junção Schottky e portanto não simétrica na curva tensão – corrente (deturpando os dados de capacidade). Finalmente, não se observou qualquer alteração dos dados se fosse aplicada qualquer tensão DC pelo que se manteve o seu valor em zero.

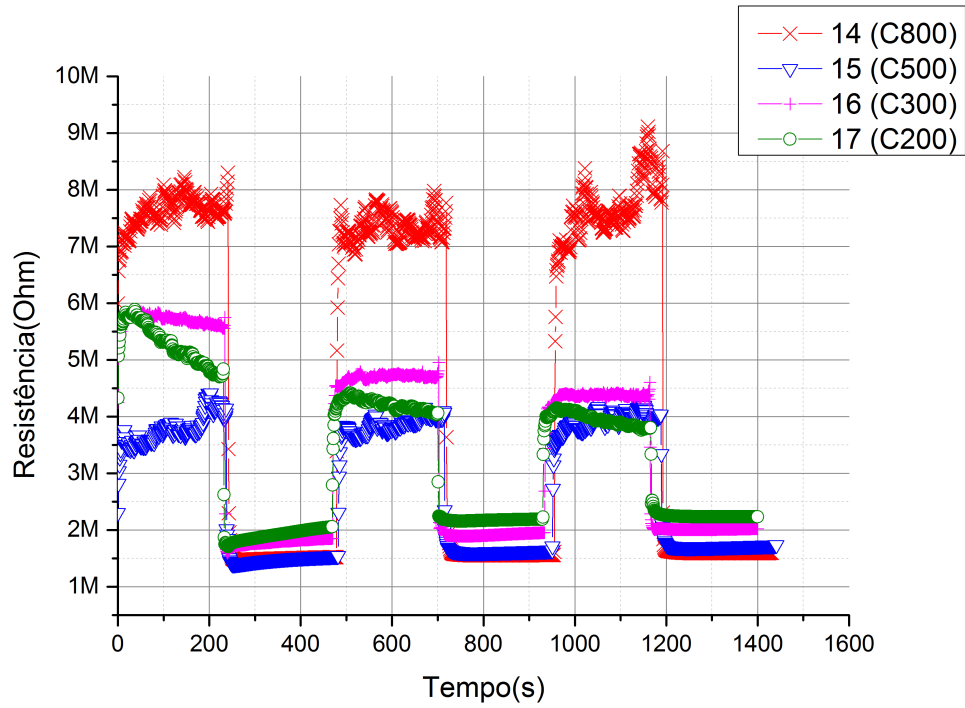


Figura 22 – Gráfico da resistência em função do tempo para amostras com microelétrodos de carbono.

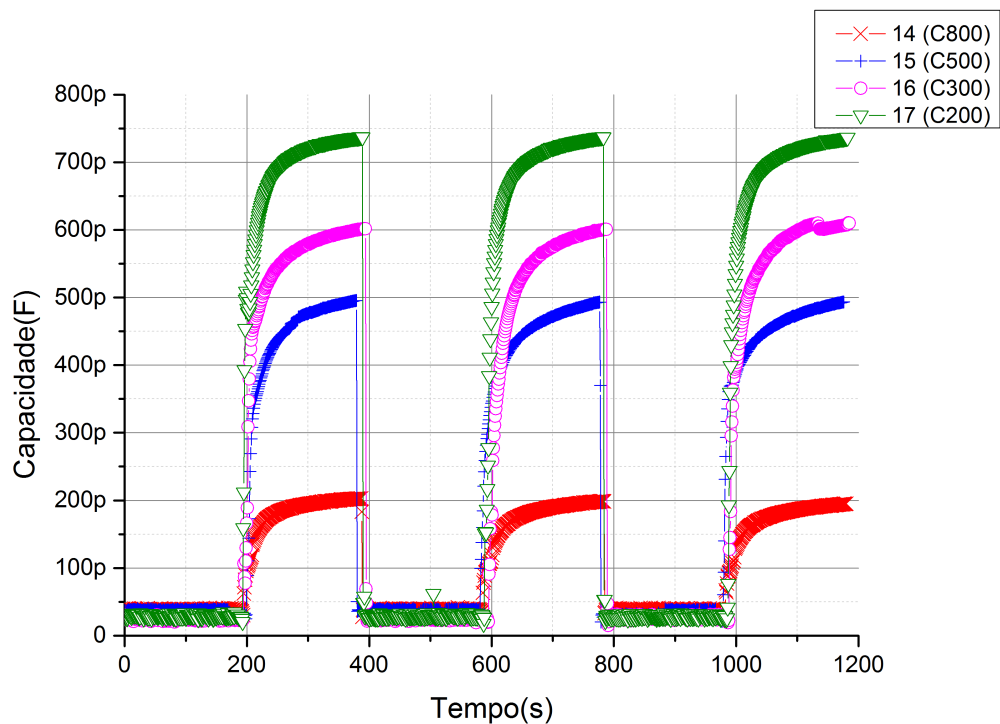


Figura 23 – Gráfico da capacidade em função do tempo para amostras com microelétrodos de carbono.

Tanto em resistência (Figura 22), como em capacidade (Figura 23), observa-se a rápida resposta dos sensores quando transitam do ambiente para o analito e vice-versa.

As moléculas de analito estão a ser adsorvidas uma vez que com a passagem entre ambientes estes regressam aos mesmos valores. Se ocorresse absorção, tanto em resistência como em capacidade, os valores de deteção seriam diferentes à medida que se havia obtido em leituras anteriores para um mesmo ambiente.

Como se pode observar pelos gráficos (figura 22 e 23), a presença do analito provoca em modo resistivo um Δ negativo (Tabela 2) e em modo capacitivo um Δ positivo (Tabela 3).

Estas observações são particularmente interessantes. No geral em modo capacitivo, os valores absolutos de capacidade tendem a aumentar com a diminuição do espaçamento dos contatos interdigitados, enquanto que em modo resistivo e apesar do verificado com os sensores C800, os restantes parecem não acompanhar o que seria a tendência esperada da resistência diminuir com o espaçamento.

As tabelas seguintes mostram um sumário das variações (Δ) entre o ambiente e o analito, variação esta analisada três vezes.

Tabela 2 – Sumário das variações (Δ) para sensores com pistas de carbono em função do espaçamento entre as pistas na alternância Ar-Analito. Modo resistivo.

	$\Delta R1$ <i>Ar (1)/ACV (1) (MΩ)</i>	$\Delta R2$ <i>Ar (2)/ACV (2) (MΩ)</i>	$\Delta R3$ <i>Ar (3)/AVC (3) (MΩ)</i>
C800	- 6	- 6	- 6,5
C500	- 2,5	- 2,5	- 2,25
C300	- 4	- 2,75	- 2,5
C200	- 3	- 2	- 1,75

Tabela 3 – Sumário das variações (Δ) para sensores com pistas de carbono em função do espaçamento entre as pistas. Modo capacitivo.

	$\Delta C1$ <i>Ar (1)/ACV (1) (pF)</i>	$\Delta C2$ <i>Ar (2)/ACV (2) (pF)</i>	$\Delta C3$ <i>Ar (3)/AVC (3) (pF)</i>
C800	175	175	175
C500	475	475	475
C300	575	575	585
C200	695	700	700

Pode-se ainda verificar que, independentemente do tamanho do sensor, na presença do analito ACV, a resistência apresenta valores com variações negativas muito próximos (na ordem dos 2M Ω). Já quanto à capacidade o patamar de 20 – 40 pF encontra-se bem definido quando o sensor se encontra exposto ao ar, ou seja sem a presença do analito.

A rapidez e magnitude da deteção pode ser observada na Figura 24, onde são mostradas as derivadas dos sinais registados, quer para o modo resistivo (C800) quer para o modo capacitivo (C200).

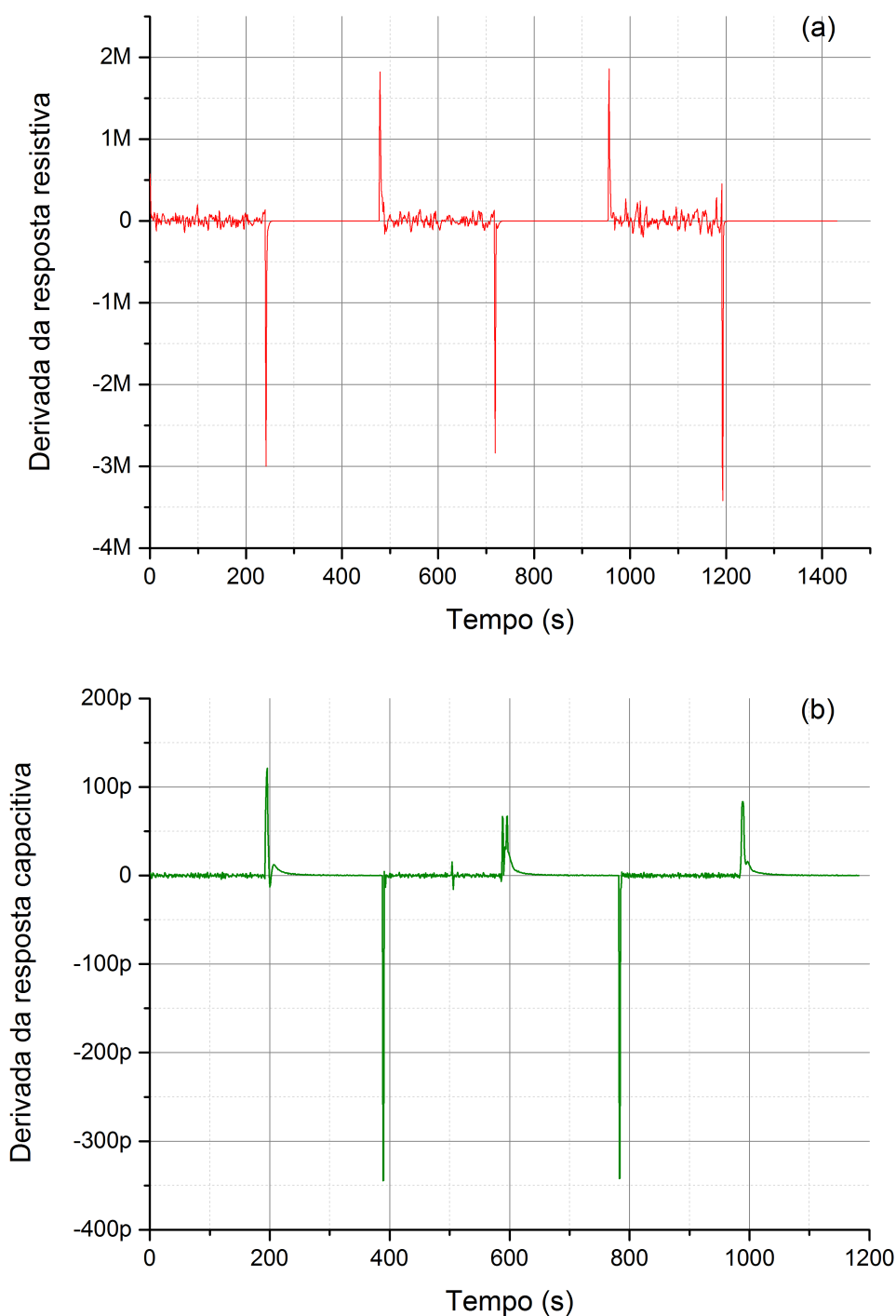


Figura 24 – Gráfico da derivada dos sinais registados em função do tempo para amostras com microelétrodos de carbono. (a) Modo resistivo e sensor C800; (b) Modo capacitivo e sensor C200.

De um modo geral, a resistência varia mais nas mudanças ar → ACV e a capacidade varia mais nas mudanças ACV → ar.

Da mesma forma, foram efetuadas medidas de resistência (Figura 25) e de capacidade (200mV, 1000Hz) (Figura 26) para as amostras 18, 19, 22 e 23 (P800, P500, P300 e P200, respetivamente) com microelétrodos de prata.

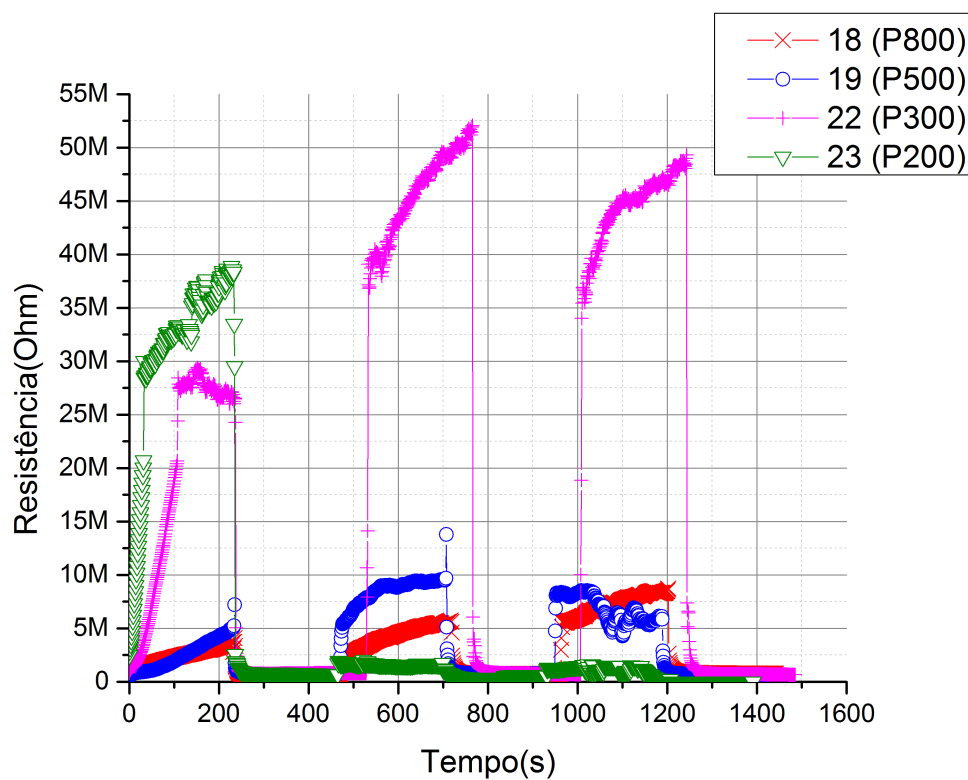


Figura 25 – Gráfico da resistência em função do tempo para amostras com microelétrodos de prata.

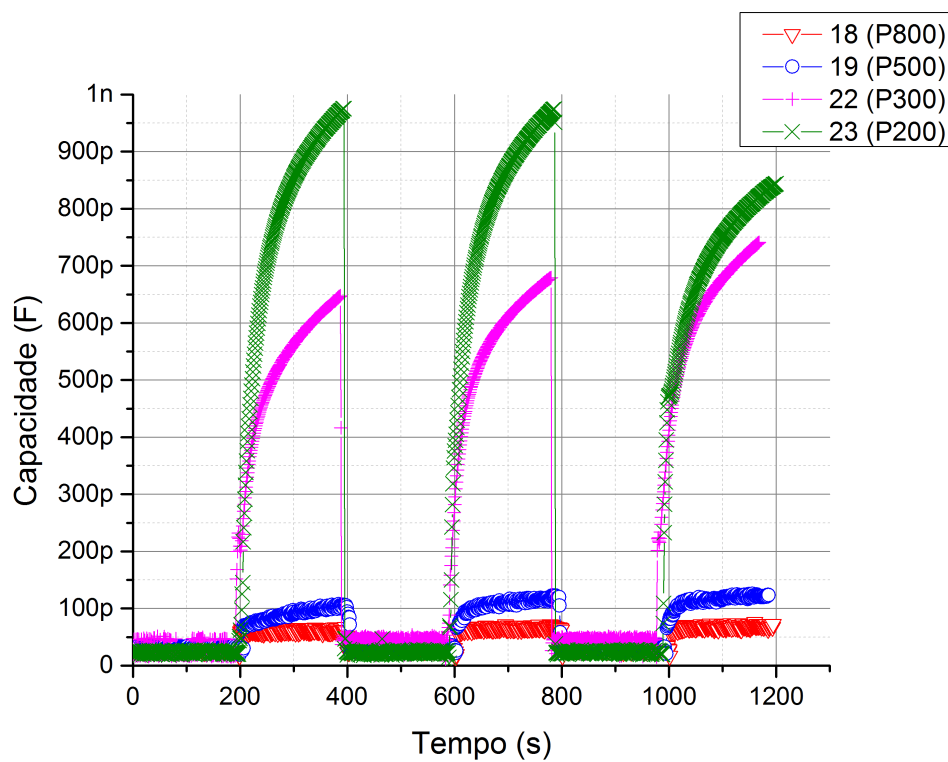


Figura 26 – Gráfico da capacidade em função do tempo para amostras com microelétrodos de prata.

Embora o comportamento observado seja similar (em termos de variação Δ) os valores absolutos são distintos. As Tabelas 4 e 5 sumarizam estes resultados.

Tabela 4 – Sumário das variações (Δ) para sensores com pistas de prata em função do espaçamento entre as pistas na alternância Ar-Analito. Modo resistivo.

	$\Delta R1$ <i>Ar (1)/ACV (1) (MΩ)</i>	$\Delta R2$ <i>Ar (2)/ACV (2) (MΩ)</i>	$\Delta R3$ <i>Ar (3)/AVC (3) (MΩ)</i>
P800	- 3	- 5	- 7,75
P500	- 4,5	- 8,75	- 5,25
P300	- 26,75	- 51,75	- 49,25
P200	- 38,25	- 1	- 1,5

Tabela 5 – Sumário das variações (Δ) para sensores com pistas de prata em função do espaçamento entre as pistas na alternância Ar-Analito. Modo capacitivo.

	$\Delta C1$ <i>Ar (1)/ACV (1) (pF)</i>	$\Delta C2$ <i>Ar (2)/ACV (2) (pF)</i>	$\Delta C3$ <i>Ar (3)/AVC (3) (pF)</i>
P800	35	40	45
P500	80	90	95
P300	605	630	705
P200	950	950	825

Tanto em resistência (Figura 25), como em capacidade (Figura 26), observa-se a resposta dos sensores quando passam do ambiente para o analito e vice-versa. No entanto, comparando com os sensores com pistas de carbono, esta resposta é mais lenta. Em 5 minutos de medida, não se conseguem atingir patamares bem definidos.

A figura seguinte mostra as derivadas dos sinais em modo resistivo (P800) e em modo capacitivo (P200), para uma comparação com os resultados mostrados na Figura 24.

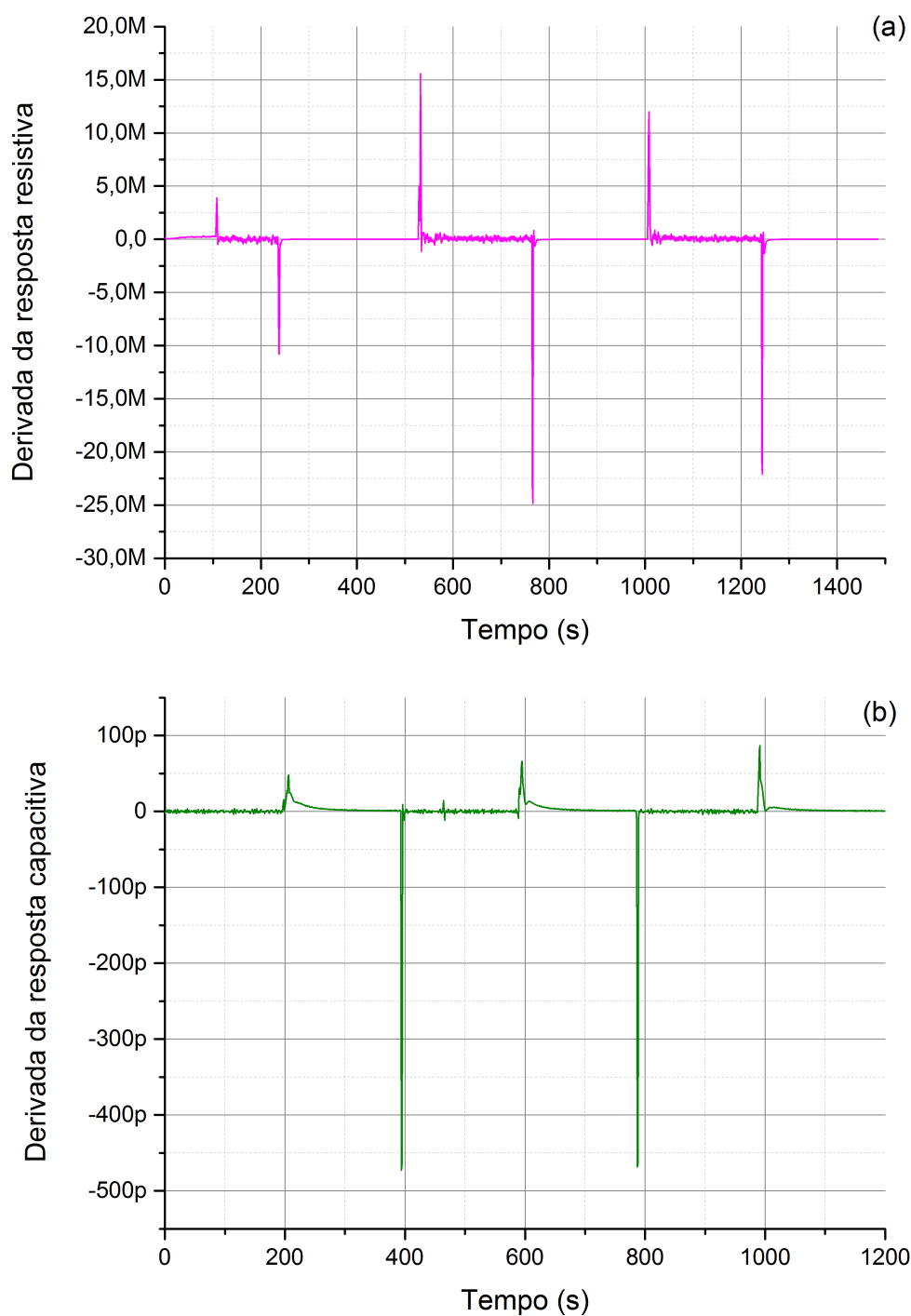


Figura 27 – Gráficos da derivada dos sinais registrados em função do tempo para amostras com microelétrodos de prata. (a) Modo resistivo e sensor P800; (b) Modo capacitivo e sensor P200.

Pode-se ainda verificar que, independentemente do tamanho do sensor, na presença do analito ACV, a resistência apresenta valores com variações negativas muito próximos (na ordem dos 700 k Ω). O sensor P200 é o único que deixa de funcionar corretamente. Quando passa do ambiente para o analito reage bem no entanto não consegue recuperar os valores iniciais em ambiente, deixando de reagir a qualquer alteração ambiental que se faça posteriormente.

Com estes microelétrodos algumas das moléculas de analito podem estar a ser absorvidas com a passagem entre ambientes, uma vez que, entre medidas no analito parece que é guardada informação. Os valores de deteção, no ambiente, variam à medida que se vai alternando.

Fazendo então a comparação da resposta dos sensores em função das pistas, chega-se à conclusão de que os sensores com microelétrodos de carbono são mais rápidos na resposta, estabilizam mais rapidamente e não absorvem as moléculas do analito. Possivelmente a interface polímero/elétrodo tem um papel fundamental, considerando inclusive as diferentes resistividades do carbono e da prata. Embora as respostas absolutas sejam mais elevadas com os elétrodos de prata, a instabilidade e tempo de resposta, respetivamente em modo resistivo e em modo capacitivo, são fatores negativos a ter em consideração.

Como se pretende utilizar esta tecnologia para deteção de patologias, seja em casa ou num consultório, há interesse em que os sensores respondam de forma rápida e eficiente.

Sendo assim, os restantes testes realizados foram feitos com sensores com microelétrodos de carbono.

4.3. Desenvolvimento e avaliação do desempenho em sensores com microelétrodos de carbono de diferentes tamanhos

Os testes realizados anteriormente permitiram constatar a diferença de resposta consoante a diminuição do tamanho dos sensores (mais precisamente da diminuição do espaçamento entre pistas). Sendo assim, foram realizados novos testes para cada um dos sensores de carbono: C800, C500, C300 e C200.

Com estas novas medições, pretendeu-se determinar qual o tamanho mais indicado para que se obtenha uma melhor resposta ao analito ACV.

Decidiu-se também testar qual a variação da resposta em função do tempo de vida de cada amostra.

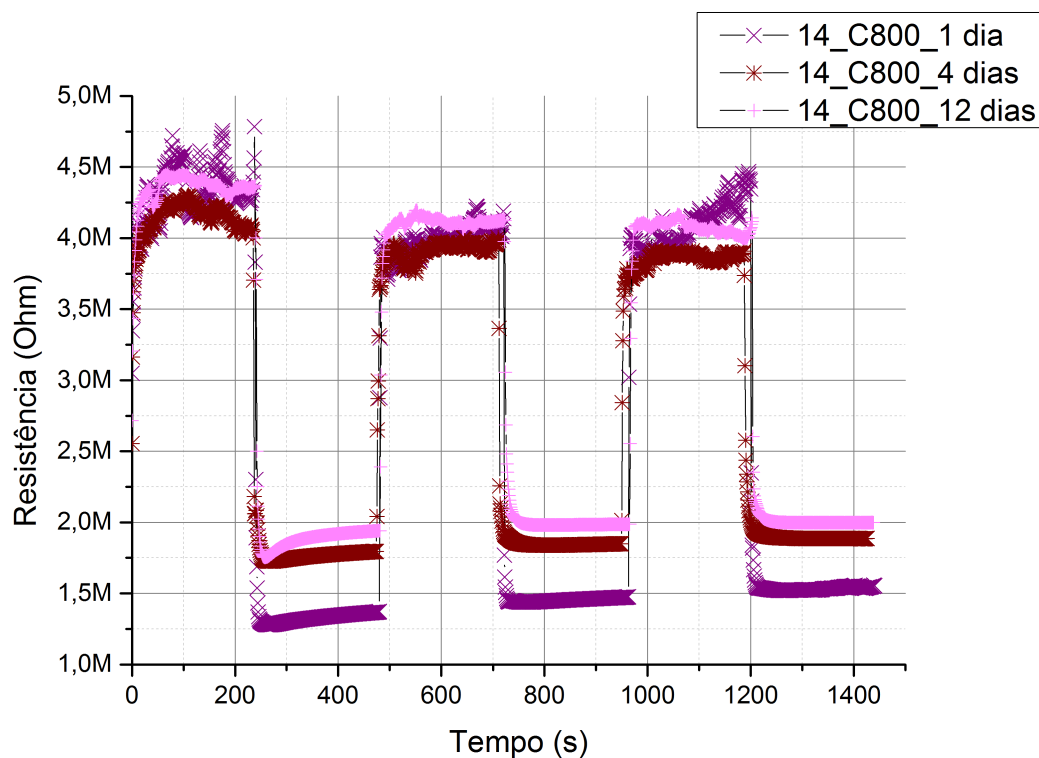


Figura 28 – Gráfico da resistência em função do tempo para a amostra C800 e resposta em função do tempo de vida (12 dias).

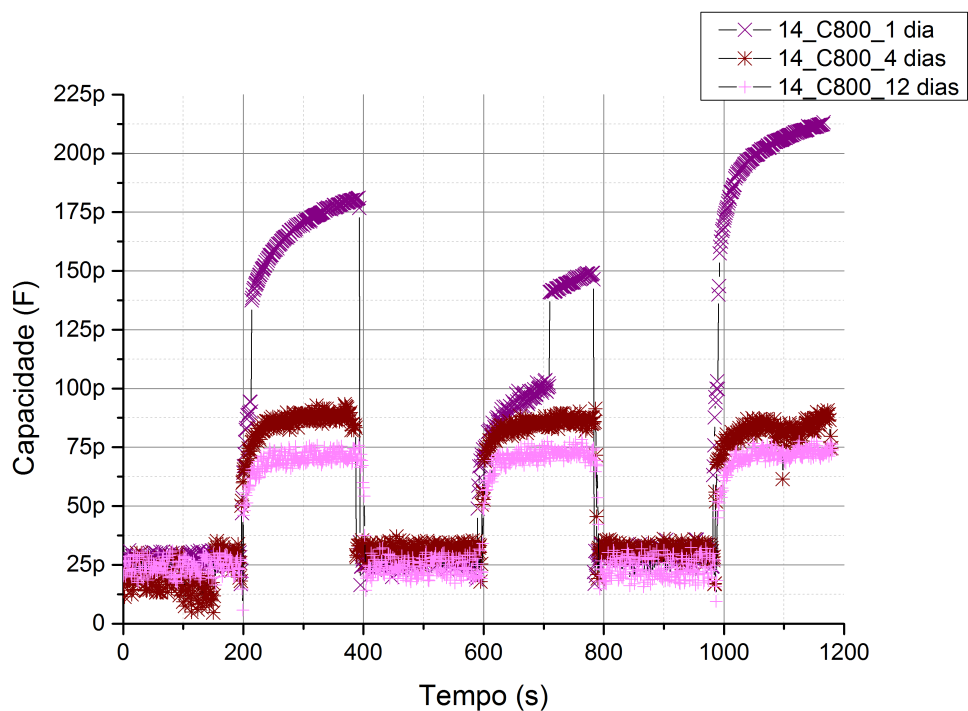


Figura 29 – Gráfico da capacidade em função do tempo para a amostra C800 e resposta em função do tempo de vida (12 dias).

Para o sensor C800, em resistência (Figura 28), observa-se um aumento gradual mas ligeiro, na presença do analito ACV, dos valores de detecção (de 1,5 MΩ para 2MΩ). Em

capacidade (Figura 29), nota-se um elevado decréscimo (de 215pF para 75pF) em cerca de 65%.

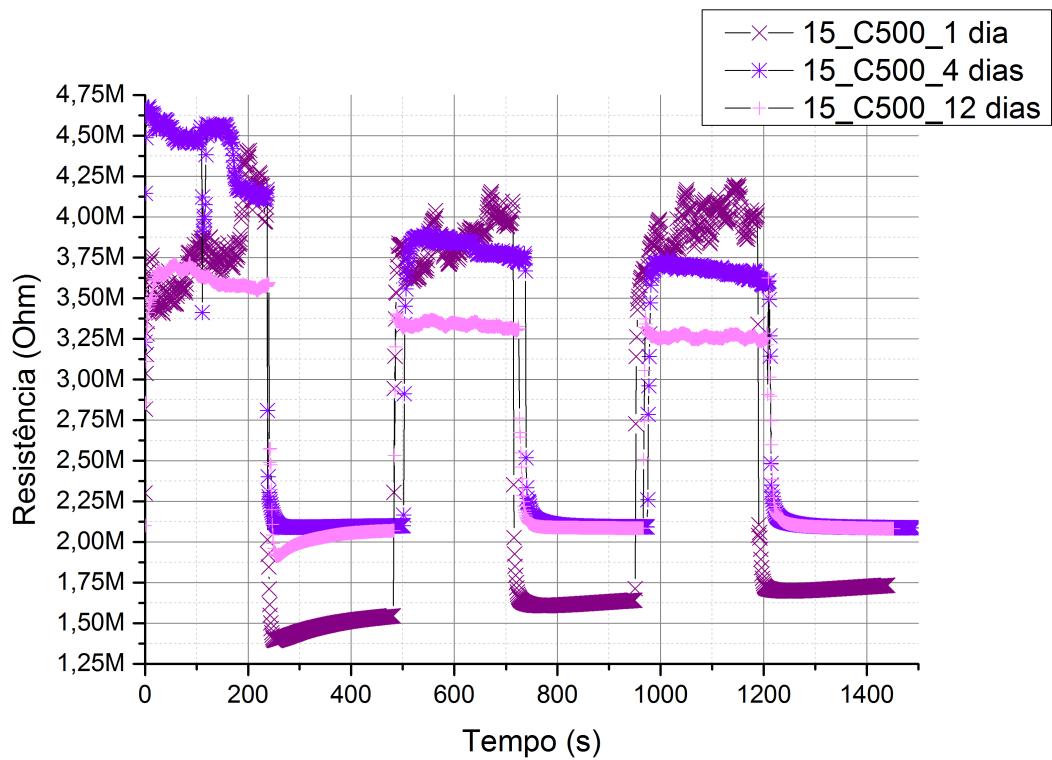


Figura 30 – Gráfico da resistência em função do tempo para a amostra C500 e resposta em função do tempo de vida (12 dias).

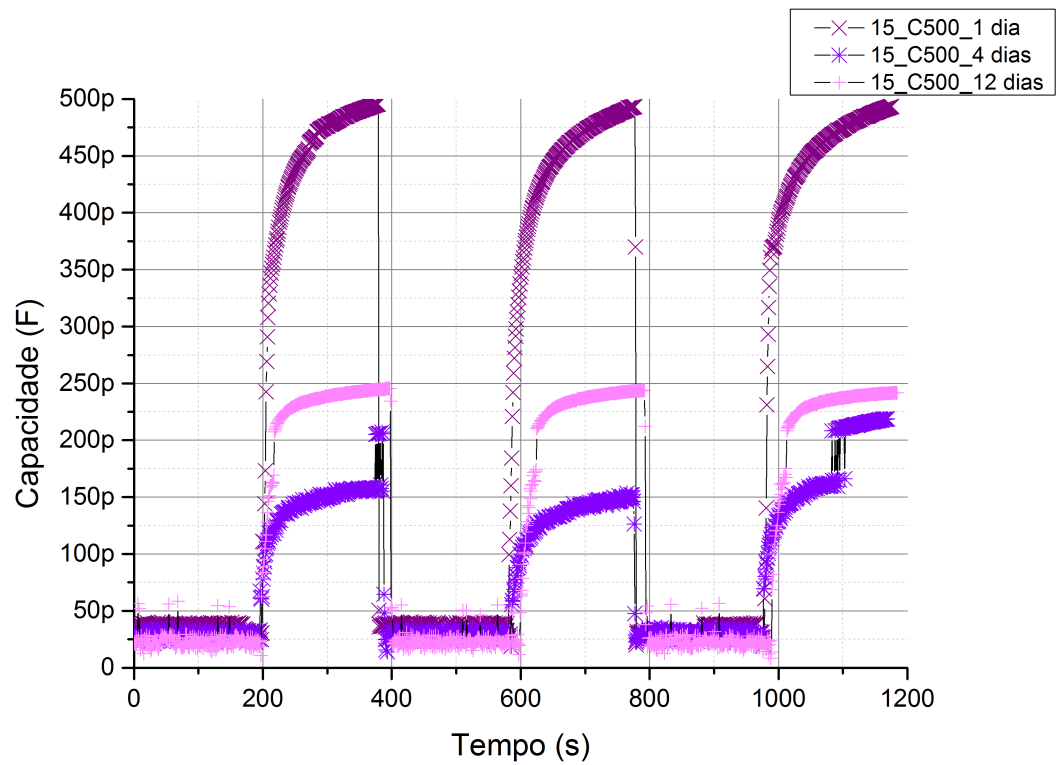


Figura 31 – Gráfico da capacidade em função do tempo para a amostra C800 e resposta em função do tempo de vida (12 dias).

Para a amostra C500, em resistência (Figura 30), observa-se um aumento gradual mas ligeiro na presença do analito ACV dos valores de detecção (de 1,75 M Ω para 2,1 M Ω). Em capacidade (Figura 31), nota-se um decréscimo significativo (de 500pF para 250pF), cerca de 50%.

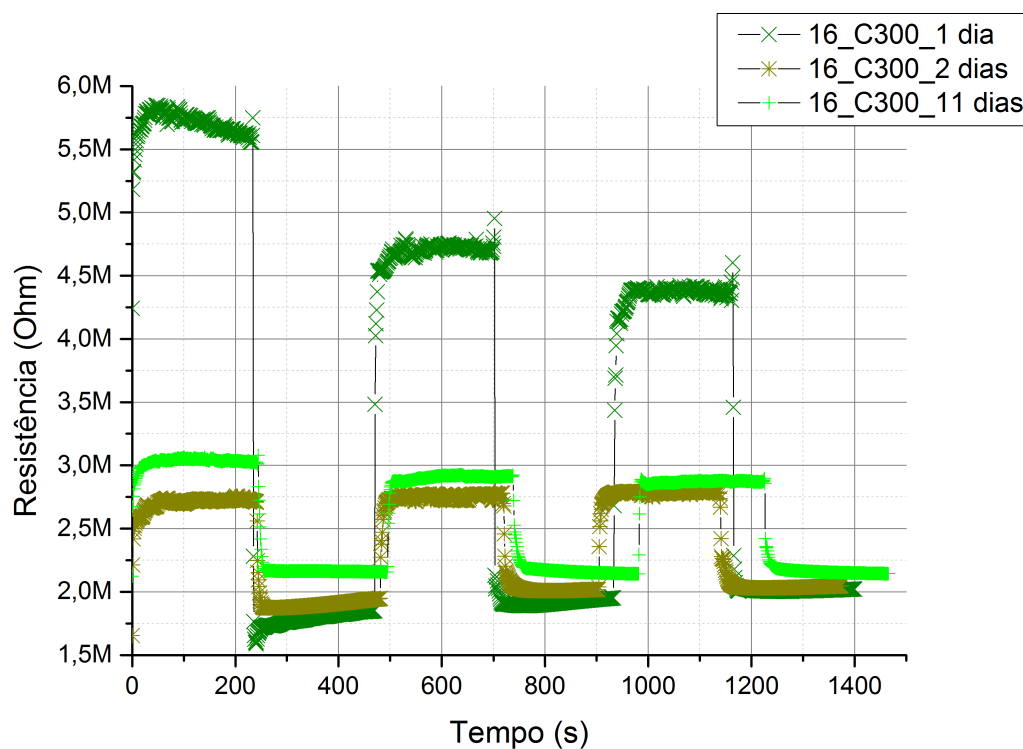


Figura 32 – Gráfico da resistência em função do tempo para a amostra C300 e resposta em função do tempo de vida (11 dias).

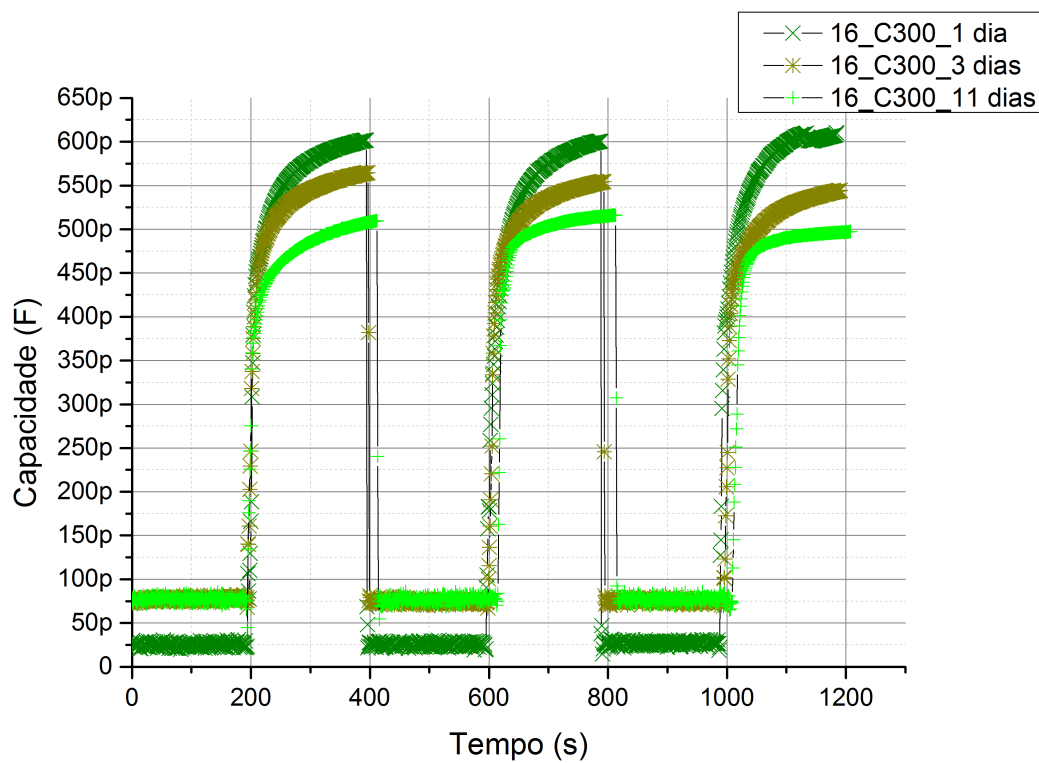


Figura 33 – Gráfico da capacidade em função do tempo para a amostra C300 e resposta em função do tempo de vida (11 dias).

Para a amostra C300, em resistência (Figura 32), observa-se um aumento gradual mas muito ligeiro, na presença do analito ACV, dos valores de detecção (de 2 MΩ para 2,2 MΩ).

Em capacidade (Figura 33) nota-se um decréscimo pouco significativo (de 620pF para 500pF), cerca de 20%.

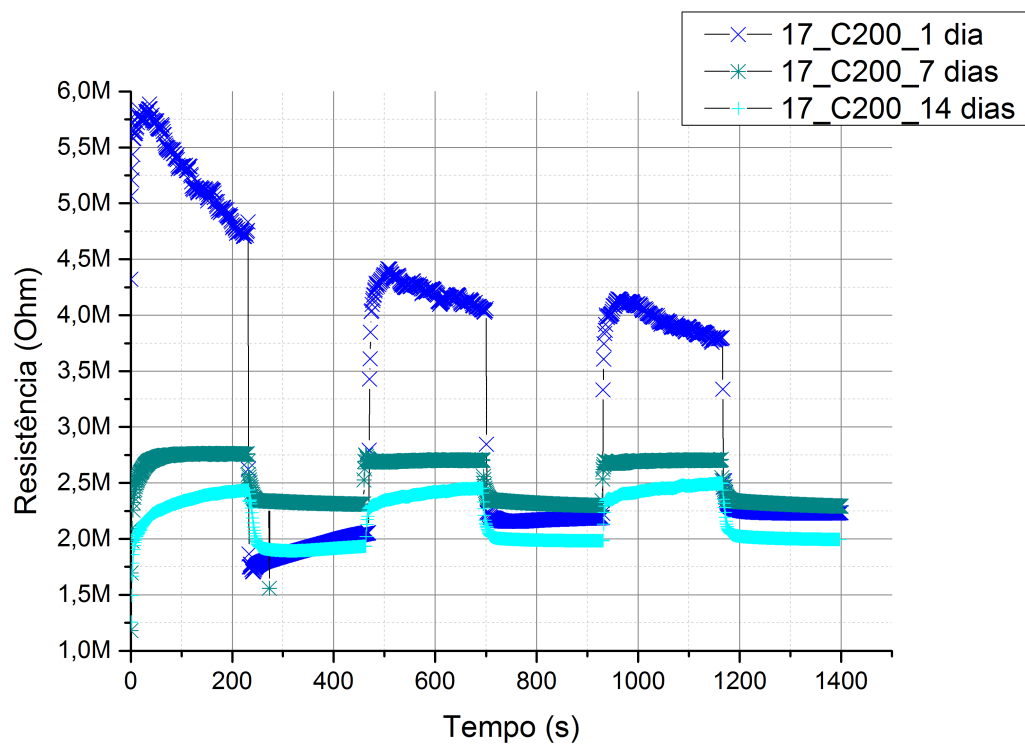


Figura 34 – Gráfico da resistência em função do tempo para a amostra C200 e resposta em função do tempo de vida (14 dias).

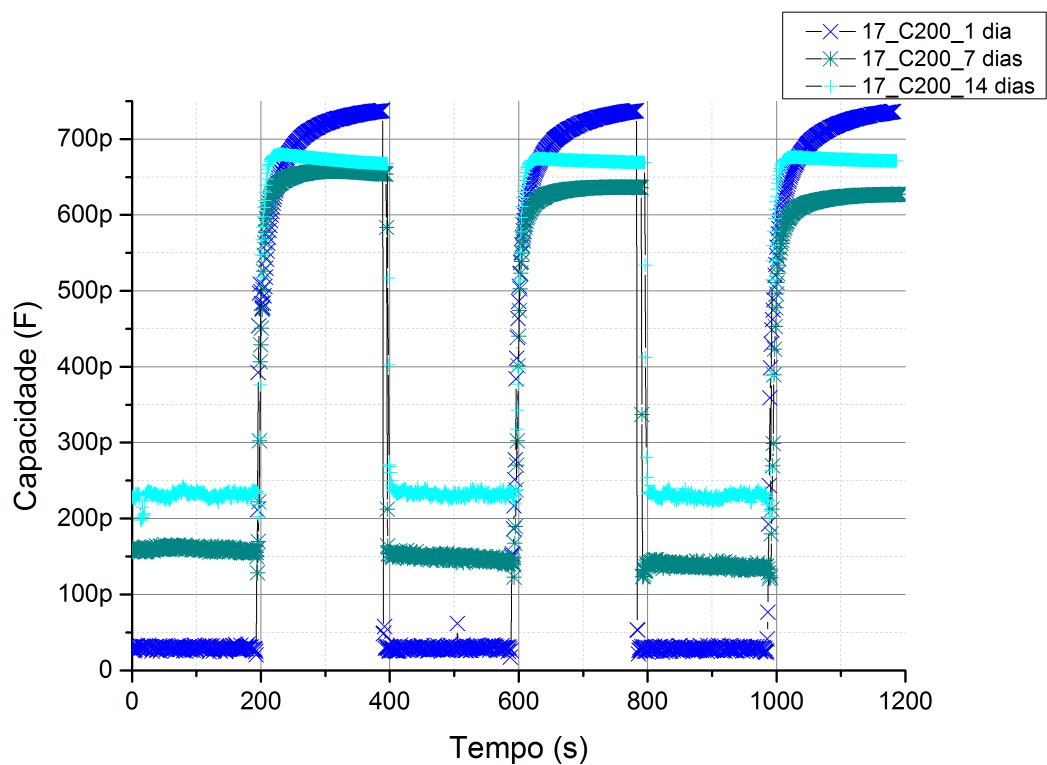


Figura 35 – Gráfico da capacidade em função do tempo para a amostra C200 e resposta em função do tempo de vida (14 dias).

Para a amostra C200, em resistência (Figura 34), observa-se um aumento gradual mas muito ligeiro, na presença do analito ACV, dos valores de detecção (de 2 MΩ para 2,25 MΩ). No entanto, há que ter em atenção a aproximação entre a resistência medida em ambiente e a

resistência medida na presença do analito. Com uma diferença tão pequena (aproximadamente de 0,5 M Ω), este valor de Δ pode comprometer a detecção.

Em capacidade (Figura 35), nota-se um decréscimo pouco significativo (de 725pF para 625pF), cerca de 15%.

Com os resultados apresentados anteriormente relativamente ao tamanho dos sensores, tem-se uma vez mais a necessidade de se obter um compromisso entre a estabilidade e a medida. A escolha recaiu sobre o sensor C300 uma vez que este apresenta uma grande estabilidade em modo capacitivo e embora não tenha a estabilidade em modo resistivo dos sensores C500 e C800, as variações de Δ são ainda passíveis de detecção permitindo, por exemplo, que se pense num sistema dual que meça quer em modo resistivo quer em modo capacitivo. Os dados obtidos mostram efetivamente que este tipo simples e barato de sensores pode ser empregue na detecção de ACV.

Todos estes fatores são muito importantes se se pensar na possibilidade de comercialização.

4.4. Desenvolvimento e avaliação do desempenho em sensores com microelétrodos de carbono em diferentes analitos

Paralelamente à detecção de ACV, é importante aferir da sensibilidade dos sensores a diferentes analitos que, embora nada tenham a ver com patologias ginecológicas, podem dar uma indicação do comportamento geral do sensor. Assim, optou-se por realizar testes comparativos com analitos disponíveis no laboratório e no quotidiano.

Para tal, fizeram-se medidas de resistência e de capacidade com a acetona, isopropanol, café, perfume Hugo Boss Intense e perfume Montana. (Figuras 36, 37, 38 e 39):

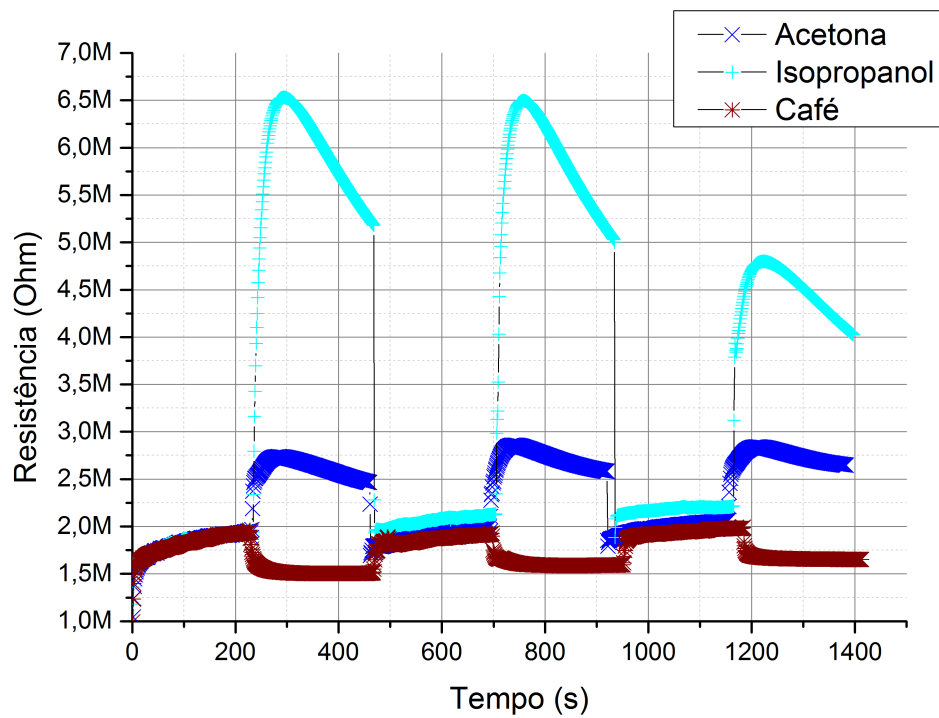


Figura 36 – Gráfico da resistência em função do tempo para a amostra C300 para diferentes analitos (acetona, isopropanol e café).

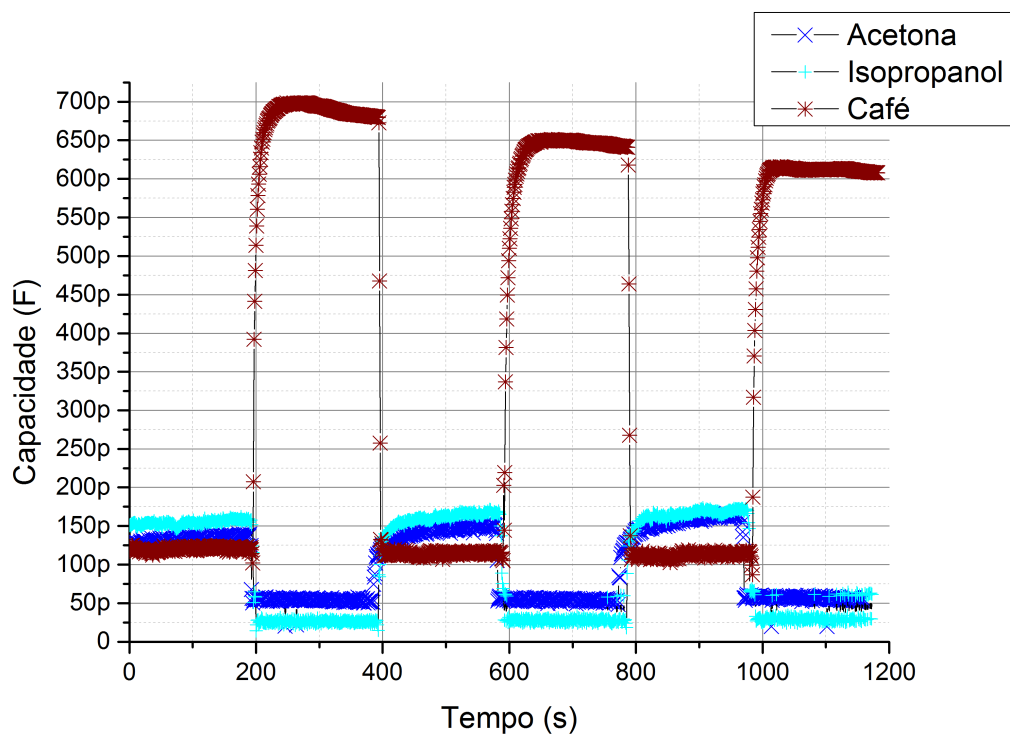


Figura 37 – Gráfico da capacidade em função do tempo para a amostra C300 para diferentes analitos (acetona, isopropanol e café).

Em resistência, comparando a acetona com o isopropanol, verifica-se desde já que a variação Δ em relação ao ambiente é positiva, ou seja, passa-se de $2M\Omega$ para $2,5M\Omega$ para a

acetona, e de $2\text{M}\Omega$ para $6,5\text{M}\Omega$ para o isopropanol. Com estes resultados podemos concluir que o sensor está a detetar e a identificar diferentes analitos. Já em capacidade, para a acetona e para o isopropanol, essas diferenças não são tão notórias. A variação Δ é negativa mas os valores de deteção que variam em apenas 25pF .

Para o café, a capacidade aumenta dos 125pF , em ambiente, para os 700pF .

Da mesma forma, foram testados dois perfumes diferentes, Hugo Boss Intense e Montana (Figuras 38 e 39):

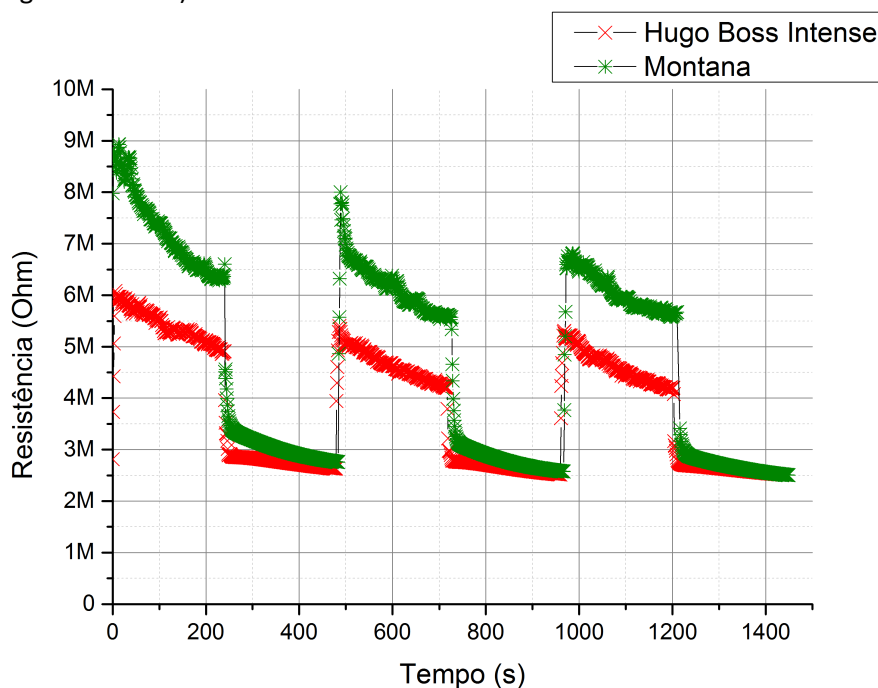


Figura 38 – Gráfico da resistência em função do tempo para a amostra C300 para diferentes perfumes (Hugo Boss Intense e Montana).

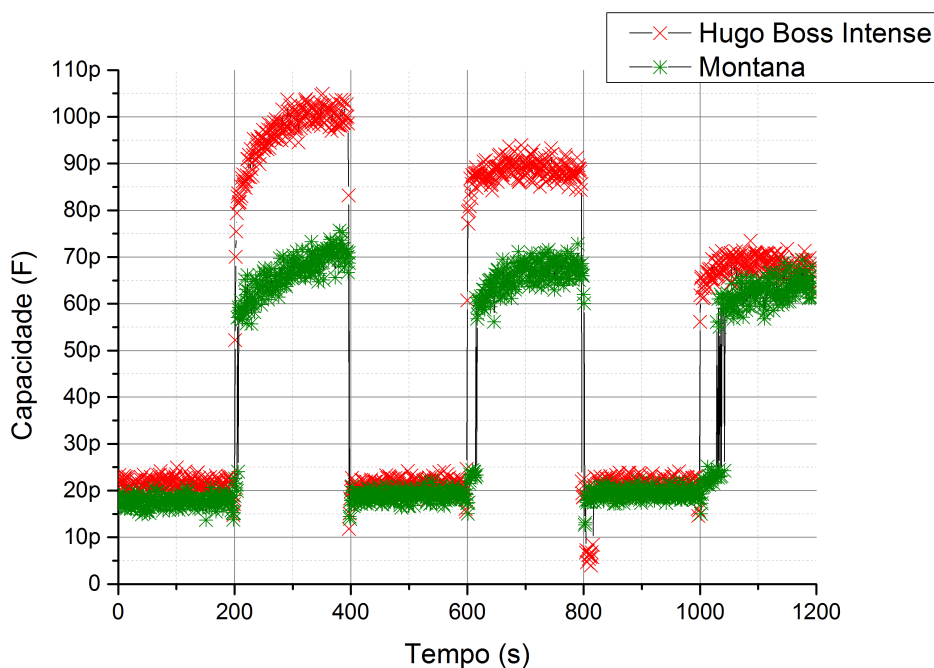


Figura 39 – Gráfico da capacidade em função do tempo para a amostra C300 para diferentes perfumes (Hugo Boss Intense e Montana).

Através dos resultados obtidos para cada um destes analitos, conclui-se que estes sensores detetam e identificam diferentes odores. A Tabela 6 mostra as variações de Δ médio (médias dos valores de Δ entre as diferentes medidas na presença de analito e de ar).

Tabela 6 – Sumário das variações médias de Δ para sensores C300 em função de diferentes analitos. Modos resistivo e capacitivo.

	$\Delta_{\text{médio}}$ Resistência (M Ω)	$\Delta_{\text{médio}}$ Capacidade (pF)
ACV	-3,1	578
Acetona	0,75	- 100
Isopropanol	4,5	- 150
Café	- 0,5	525
Perfume Hugo Boss Intense	- 4	70
Perfume Montana	- 2,5	45

Os resultados mostram que efetivamente é possível a aplicação deste tipo de sensor para a deteção de diferentes tipos de odores. Contudo, como estes últimos resultados mostram, existem limites para o seu uso em particular quando uma mistura de odores pode levar a variações de Δ , quer capacitivo quer resistivo, da mesma magnitude e sinal. No entanto, e considerando os diferentes tipos de analitos testados, não é expectável a sua mistura num ambiente, por exemplo, de despistagem de patologias ginecológicas, pelo que naturalmente se mantêm válidas as expectativas de utilização específica.

5. Conclusões

No presente trabalho estudaram-se diferentes sensores, baseados em narizes eletrónicos, com vista à aplicação tecnológica futura destes dispositivos como ferramenta de deteção de patologias ginecológicas. Assim sendo, foram desenvolvidos e estudados dois tipos de sensores, uns com microelétrodos interdigitados de prata e outros com microelétrodos interdigitados de carbono, ambos com uma camada do polímero PEDOT:PSS. Realizaram-se também medidas de resistência e de capacidade apenas com os microelétrodos interdigitados, sem camada de polímero, e não se obtiveram quaisquer resultados. Conclui-se assim a importância da camada sensativa de um polímero condutor.

Foi disponibilizado um analito biológico à base de culturas de *Candida*, que pretende simular a patologia Candidose Vaginal (ACV) e com o mesmo foram efetuados diversos testes com os diferentes tipos de sensores. Com o polímero condutor, chegou-se à conclusão de que os sensores com pistas de carbono são mais rápidos a responder, estabilizam mais rapidamente e não absorvem as moléculas do analito. A resposta dos sensores depende do tipo de transdutor, da camada sensativa e do analito, ou seja, a resposta depende da combinação dos elementos sensativos com o analito.

Optando-se então pelos microelétrodos de carbono, testaram-se sensores com diferentes tamanhos, mais precisamente, com diferentes distâncias entre pistas (distâncias de 800 μm , 500 μm , 300 μm e 200 μm). Conclui-se, através de medidas de resistência e de capacidade, que a distância entre elétrodos ideal seria de 300 μm . O sensor é muito mais estável, mesmo ao longo de 14 dias.

Os resultados obtidos mostram uma variação (Δ) quer em modo resistivo, quer em modo capacitivo, com valores que permitem claramente distinguir entre um ambiente com ACV e um ambiente apenas ao ar. As variações são distintas, com ΔR negativo ($\text{ar} \rightarrow \text{ACV}$) e com ΔC positivo nas mesmas transições. De realçar que as respostas são estáveis ao longo do tempo, verificando-se que nas transições de ambientes ($\text{ar} \rightarrow \text{ACV}$ e $\text{ACV} \rightarrow \text{ar}$) os valores de Δ não são particularmente afetados. Isto significa que é possível fazer testes sucessivos numa mesma amostragem de forma a comprovar a presença ou não da patologia. Naturalmente que tal acontece devido ao facto de o processo de alteração das propriedades elétricas do sensor se dever a uma adsorção superficial das moléculas do analito e não a uma absorção das mesmas (caso em que uma vez na presença do analito, os processos são irreversíveis). Esta é uma vantagem adicional deste tipo de sensores.

As respostas dos sensores são especialmente rápidas à mudança do analito (facilmente observado pelas diferenciais das respostas) o que também deve ser um facto a ter em consideração nas suas vantagens uma vez que num teste, e combinado com a reversibilidade da deteção, é possível fazer uma série de ensaios de despistagem, de uma forma rápida, não necessitando de uma longa espera.

Com vista a uma maior compreensão do comportamento deste tipo de sensores, foram efetuados mais testes com outros odores, mais precisamente com a acetona, isopropanol, café e perfumes. Curiosamente, em todos os casos temos uma resposta dos sensores, quer em modo resistivo quer em modo capacitivo, e verifica-se que os valores de Δ são sempre de uma ordem de grandeza que, numa análise estatística, permite dar garantias relativamente boas de uma deteção bem sucedida. Paralelamente, continua-se a verificar que a resposta dos sensores mantém-se rápida, o que indica que as alterações físicas e químicas resultantes da adsorção das moléculas dos diferentes analitos pelo sensor, são, à partida, independentes do tipo de analito mas mais diretamente correlacionadas com a própria estrutura do sensor. E também é observada a reversibilidade, característica que reforça a conclusão anterior.

Um aspeto importante de analisar, com potenciais implicações no uso deste tipo de sensores, é o de que poderá ser particularmente difícil usar estes sensores para uma deteção absoluta de um analito, num ambiente de múltiplos odores. Isso chegou a ser verificado, por exemplo quando os sensores tiveram uma resposta menos assertiva na presença de um ambiente onde se partilhava odores de acetona / isopropanol e os dois tipos de perfume. Naturalmente que uma solução para ultrapassar tal problema, seria construir um array de sensores de diferentes tipos e depois tratar estatisticamente os resultados, muito embora esta solução incremente os custos e complexidade, afastando-se dos objetivos propostos. Contudo, deve-se realçar que a utilização deste tipo de sensor pretende antes de mais uma despistagem rápida, simples e “*low cost*” de uma patologia, em ambientes a testar, onde não é suposto misturarem-se odores por exemplo de Candidas com perfumes e / ou café. Isto significa que a utilização do sensor é especificamente direcionada. Deteções quantitativas também podem ser complicadas, uma vez que é conhecida a enorme dificuldade em quantificar a concentração de um analito como o ACV, i.e. de origem biológica, através de sensores de odor. Independentemente destes factos, deve-se referir que o objetivo inicialmente proposto era verificar se o sensor deteta ou não a patologia e isso foi efetivamente comprovado.

Paralelamente verificou-se uma certa estabilidade na deteção dos sensores quando testados em dias diferentes, o que é importante para a sua viabilidade. Na realidade trata-se de sensores com um filme orgânico condutor, materiais que são bem conhecidos por exibirem uma degradação química quando expostos ao ar e / ou humidade. No caso presente em estudo é possível verificar algumas alterações ao fim de uns dias mas que no entanto tendem a estabilizar. Se pensarmos numa aplicação prática, os sensores estarão devidamente acondicionados em embalagens estanques o que faz prever uma longa validade. De realçar por exemplo, que os sensores quando sujeitos a um ambiente onde se efetua um baixo vácuo tendem a alterar o seu “patamar” (em modo resistivo o valor obtido em condições ambientais normais tende a aumentar; isto sugere que o ambiente de partida deve ser bem estabelecido e neste caso escolheu-se partir de um ambiente o mais próximo possível de uma situação de utilização “normal”).

De referir que sensores de extraordinário baixo custo, fáceis de produzir e com fiabilidade de despistagem de patologias ginecológicas, podem oferecer um conjunto de mais-valias importantes quando se pensa na cada vez maior tentativa de massificação da saúde “*home made*”. Pode-se efetivamente pensar num sistema de medida que facilmente seria construído com a eletrónica simples atual, capaz de medir as variações de capacidade ou resistência (e mesmo conceber a medida em ambos os modos sequencialmente). A comercialização deste tipo de equipamento com os sensores descartáveis seria potencialmente importante do ponto de vista de saúde.

Finalmente, e como trabalho futuro, a curto e médio prazo, do ponto de vista sequencial do que foi efetuado, propõe-se:

- Estudar o comportamento dos sensores, nomeadamente a sua durabilidade e respostas em ambientes de diferentes níveis de oxigénio e humidade;
- Utilizar diferentes polímeros semicondutores para o sensor;
- Estudar diferentes métodos de deposição do polímero e quais as consequências da sua espessura;
- Comparar diferentes analitos biológicos;
- Verificar variações em diferentes ambientes e em ambientes com diferentes tipos de odores;
- Estudo *in-vivo* em pacientes com diferentes patologias.

Referências Bibliográficas

- [1] D'AMICO et al. "Portraits of gases and liquids by arrays of nonspecific chemical sensors: trends and perspectives" *Sensors and Actuators B*, v. 68, p.324-330, 2000.
- [2] RIUL JR., A. et al. "Wine classification by taste sensors made from ultra-thin films and using neural networks" *Sensors and Actuators B*, v. 98, p.77-82, 2004.
- [3] CARMEL, L.; SEVER N.; HAREL, D. "On predicting responses to mixtures in quartz microbalance sensors" *Sensors and Actuators B*, v. 106, p.128-135, 2005.
- [4] ESCUDER-GILABERT, L.; PERIS, M. "Highlights in recent applications of electronic tongues in food analysis" *Analytica Chimica Acta*, 2010, in press.
- [5] RIUL, A. et al. "An artificial taste sensor based on conducting polymers" *Biosensors & Bioelectronics*, 2002.
- [6] TOKO K.; "A taste sensor" *Meas. Sci. Technol.*, v.9, p.1919-1936, 1998.
- [7] VLASOV Y.; LEGIN A.; RUDNITSKAYA A. "Electronic tongue and their analytical application" *Anal. Bioanal. Chem.*, v.373, p.136-146, 2002.
- [8] LEGIN, A. et al. "Electronic tongue for quality assessment of ethanol, vodka and eau-de-vie" *Analytical Chimica Acta*, v. 534, p. 129-135, 2005.
- [9] DI NATALE, C. et al. "Application of metalloporphyrins-based gas and liquid sensor arrays to the analysis of red wine" *Analytica Chimica Acta*, v.513, p.49-56, 2004.
- [10] PERSAUD, K.; DODD. G; "Analysis of discrimination mechanisms in the mammalian olfactory system using a model nose", *Nature*, v.299, p.352-355, 1982.
- [11] JAMES, D.; et al.; "Chemical Sensors for electronic nose systems", *Microchemical Acta*, v.149, p.1-17, 2005.
- [12] ARRIETA, A. A. et al. "Voltammetric sensor array based on conducting polymer-modified electrodes for the discrimination of liquids" *Electrochimica*, v.49, p. 4545-4551, 2004.
- [13] SI, P. et al. "Polymer coated quartz crystal microbalance sensors for detection of volatile organic compounds in gas mixtures" *Analytica Chimica*, v.597, p.223-230, 2007.
- [14] LI, B. et al. "Inkjet printed chemical sensor array based on polythiophene conductive polymers" *Sensors and Actuators B*, v.123, p.651-660, 2007.
- [15] KUMAR, B. et al. "Conductive bio-Polymer nano-Composites (CPC): Chitosan-carbon nanotube transducers assembled via spray layer-by-layer for volatile organic compound sensing", *Talanta*, v.81, p.908-915, 2010.
- [16] LEITE, F. et al. "Sensor arrays to detect humic substances and Cu(II) in waters", *Synthetic Metals*, v.159, p.2333-2337, 2009.

- [17] WIZIACK, N. K. L. et al. "Effect of film thickness and electrode geometry on the performance of taste sensors made of nanostructured conducting polymer films", *Sensors and Actuators B.*, v.122, p.489-492, 2007.
- [18] RIUL JR, A. et al. "An electronic tongue using polypyrrole and polyaniline", *Synthetic Metals*, v.132, p.109-116, 2003.
- [19] BRUGNOLLO E. D. et al. "Fabrication and characterization of chemical sensors made from nanostructured films of poly(o-ethoxyaniline) prepared with diferente doping acids", *Thin Solid Films*, v.516, p.3274-3281, 2008.
- [20] HERMANN JR, P. S. P. et al. "Polyaniline-based sensor obtained by using line patterning technique on plastic", *Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciências dos Materiais*, Porto Alegre, 2004.
- [21] MEDEIROS, E. S.; "Desenvolvimento de sensores de polímeros condutores para avaliação de sucos de laranja", *Tese (Doutorado em Engenharia de Materiais)*, Universidade Federal de São Carlos, 2006.
- [22] STETTER J.; "A capacitance-based sensor array", *Tech. Dig. Ninth International Symposium Olfaction and Electronic Nose*, Rome, Italy, 2002.
- [23] MARTINELLI, E. et al. "Na array of capacitive sensors based on a comercial fingerprint detectors", *Sensors and Actuators B.*, v.130, p.264-268, 2008.
- [24] PIGHINI, M. et al. "A new application of capacitive sensors for the nucleic acids revelation", *Sensors and Actuators B.*, v.103, p.325-330, 2004.
- [25] DI NATALE, C. et al. "Na electronic nose for food analysis", *Sensors and Actuators B.*, v.44, p.521-526, 1997.
- [26] SAEVELS, S. et al. "Electronic nose as a non-destructive tool to evaluate the optimal harvest date of apples", *Biology and Technology*, v.30, p.3-14, 2003.
- [27] PENNAZZA G. et al. "Monitoring of melanoma released volatile compounds by a gas sensors array: From in vitro to in vivo experiments", *Sensors and Actuators B.*, 2010.
- [28] BARTOLAZZIA, A. et al. "A sensor array and GC study about VOCs and cancer cells", *Sensors and Actuators B.*, 2009.
- [29] WINQUIST, F.; LUNDSTROM, I.; WINE, P. "The combination of na electronic tongue and na electronic nose", *Sensors and Actuators B.*, v.58, p.512-517, 1999.
- [30] APETREIA, C. et al. "Combination of an e-nose, an e-tongue and an e-eye for the characterisation of olive oils with different degree of bitterness", *Analytica Chimica*, v.663, p.91-97, 2010.
- [31] WIZIACK, N. K. L. et al. "A sensor array based on mas and capacitance transducers for the detection of adulterated gasolines", *Sensors and Actuators B.*, v.140, p.508-513, 2009.
- [32] GUNES S, NEUGEBAUER H, SARICIFTCI NS. "Conjugated polymer-based organic solar cells". *Chemical Reviews*. v.107: p.1324-1338, 2007.

- [33] ADHIKARI B, MAJUMDAR S. "Polymers in sensor applications". Progress in Polymer Science. 2004; 29: 699-766.
- [34] GERARD M, CHAUBEY A, MALHOTRA BD. "Application of conducting polymers to biosensors". Biosensors & Bioelectronics. 2002; 17: 345-59.
- [35] RAHMAN MA, KUMAR P, PARK DS, SHIM YB. "Electrochemical sensors based on organic conjugated polymers". Sensors. 2008; 8: 118-41.
- [36] MCQUADE DT, PULLEN AE, SWAGER TM. "Conjugated polymer-based chemical sensors". Chemical Reviews. 2000; 100: 2537-74
- [37] HUANG YQ, KANGAS LJ, RASCO BA. "Applications of artificial neural networks (ANNs) in food science". Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2007; 47: 113-26.
- [38] LEWIS E, SHERIDAN C, O'FARRELL M, et al. "Principal component analysis and artificial neural network based approach to analysing optical fibre sensors signals". Sensors and Actuators a-Physical. 2007; 136: 28-38.
- [39] PRAVDOVA V, PRAVDA M, GUILBAULT GG. "Role of chemometrics for electrochemical sensors". Analytical Letters. 2002; 35: 2389-419.
- [40] <http://hms.harvard.edu/harvard-medicine/five-senses> (acedido a 16/12/2013)
- [41] http://www.123rf.com/photo_13328441_head-and-brain-abstract-illustration.html (acedido a 16/12/2013)
- [42] BAI H, SHI GQ. "Gas sensors based on conducting polymers". Sensors. 2007; 7: 267-307.
- [43] BAKKER E, QIN Y. "Electrochemical sensors". Analytical Chemistry. 2006; 78: 3965-83.
- [44] PANKAJ K, KUMAR SH, SUKHJEET K. "Conducting polymer based potentiometric sensors". Research Journal of Chemistry and Environment. 2012; 16: 125-33.
- [45] WHITCOMBE MJ, VULFSON EN. "Imprinted polymers". Advanced Materials. 2001; 13: 467.
- [46] BALDWIN EA, BAI JH, PLOTTO A, DEA S. "Electronic Noses and Tongues: Applications for the Food and Pharmaceutical Industries". Sensors. 2011; 11: 4744-66.
- [47] KALVODA R. "The Electronic nose and tongue". Chemicke Listy. 2000; 94: 215-9.
- [48] RIUL A, DANTAS CAR, MIYAZAKI CM, OLIVEIRA ON. "Recent advances in electronic tongues". Analyst. 2010; 135: 2481-95.
- [49] RICHARDS E, BESSANT C, SAINI S. "Multivariate data analysis in electroanalytical chemistry". Electroanalysis. 2002; 14: 1533-42.
- [50] ROCK F, BARSAN N, WEIMAR U. "Electronic nose: Current status and future trends". Chemical Reviews. 2008; 108: 705-25.
- [51] STRIKE DJ, MEIJERINK MGH, KOUDELKA-HEP M. "Electronic noses - A mini-review". Fresenius Journal of Analytical Chemistry. 1999; 364: 499-505.

- [52] DE PAOLI, M. A.; Menescal, R. K. "Polímeros orgânicos condutores de energia elétrica", Química Nova, v.9, p.133-140, 1986.
- [53] FAEZ, R. et al. "Polímeros Condutores", Actualidades em Química, Nº11, p.13-18, 2000.
- [54] CHIANG, C. K. et al. "Effect of uniaxial stress on electrical conductivity of sulphur nitride polymer", Phys. Ver. Lett., v.60, p.375-377, 1977.
- [55] MATTOSO, L. H. C., Química Nova, 19, v.4, p.388, 1996.
- [56] SHRUTI BADHWAR, "Material Aspects of PEDOT: PSS", Chapter 2, p.7-14.
- [57] http://www.heraeus-clevios.com/en/technik/productdetail_1034017.aspx?psMarketId=1280&psApplicationId= (acedido a 31/12/2013)
- [58] <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/x100?lang=pt®ion=PT> (acedido a 31/12/2013)
- [59] http://www.indorama.net/EN/ourBusinesses/pdf/PET/PET_Profile.pdf (acedido a 31/12/2013)
- [60] <http://www.epa.gov/ttnchie1/ap42/ch06/final/c06s06-2.pdf> (acedido a 31/12/2013)
- [61] <http://www.centi.pt/> (acedido a 31/12/2013)
- [62] http://www.cvel.clemson.edu/emc/expert_systems/PCB/summaries/Mutual_LC_summary.pdf (acedido a 03/01/2014)
- [63] <http://www.mbit.pt/catalogo/detalhes.php?id=75971&cat=2571&nome=NOISEBLOCKER+-+Black+Silent+XM2+40mm> (acedido a 03/01/2014)
- [64] <http://pt.farnell.com/silvertronic/502008c/toothless-solid-copper-alligator/dp/1858862> (acedido a 03/01/2014)
- [65] TRACTON, A. "Coatings Technology Handbook", Third Edition, Taylor & Francis Group, Chapter 23, 2006.
- [66] <http://www.solgel.com/articles/Nov00/mennig.htm> (acedido a 03/01/2014)
- [67] http://www.rokuprint.com/eng/debgcms/cmsdata/artikel/144/db_rp_2.2_e.pdf (acedido a 06/01/2014)
- [68] <http://large.stanford.edu/courses/2007/ph210/hellstrom1/> (acedido a 06/01/2014)
- [69] OHRING, MILTON. "The materials science of thin films", Academic Press, 1992.
- [70] http://web.iitd.ac.in/~arunku/files/CEL311_Y13/Adsorption%20Theory%20to%20practice_Dabrowski.pdf (acedido a 10/01/2014)